

# El estrés crónico y su relación con el acortamiento de telómeros y el envejecimiento prematuro

**Autor:** Coronado Martinez, Jose (Licenciado en medicina y Cirugia, Medicina Familiar y Comunitaria).

**Público:** Medicina Estetica. **Materia:** Medicina del envejecimiento. **Idioma:** Español.

**Título:** El estrés crónico y su relación con el acortamiento de telómeros y el envejecimiento prematuro.

## Resumen

El estrés crónico conduce a deterioro y acortamiento de los telómeros acelerando el deterioro celular a través de diferentes mecanismos tanto conductuales, inmunológicos y metabólicos que inciden en el deterioro celular molecular que finaliza con una senescencia prematura. Existe en casi todos los estudios clínicos una relación directa y proporcional entre el estrés percibido y el grado de acortamiento telomérico así como una menor actividad de la telomerasa. Los estudios clínicos en trastornos psiquiátricos muestran una clara relación entre el acortamiento telomérico, baja actividad de telomerasa y acelerado deterioro celular con envejecimiento prematuro.

**Palabras clave:** estres cronico, telomeros, envejecimiento.

**Title:** Chronic stress and its relationship to telomere shortening and premature aging.

## Abstract

Chronic stress leads to deterioration and shortening of telomeres, accelerating cellular deterioration through different behavioral, immunological and metabolic mechanisms that affect molecular cellular deterioration that ends with premature senescence. In almost all clinical studies, there is a direct and proportional relationship between perceived stress and the degree of telomeric shortening, as well as a lower activity of telomerase. Clinical studies in psychiatric disorders show a clear relationship between telomeric shortening, low telomerase activity and accelerated cellular deterioration with premature aging.

**Keywords:** chronic stress, telomeres, aging.

Recibido 2018-06-13; Aceptado 2018-06-18; Publicado 2018-07-25; Código PD: 097047

## INTRODUCCIÓN.

El estrés psicológico crónico está asociado a un detrimento en la salud física que pudiera contribuir a un envejecimiento celular acelerado, como se ha comprobado por el acortamiento acelerado de los telómeros.

Factores como el desempleo, problemas financieros y otras experiencias negativas tales como cuidar enfermos por largo tiempo, han sido ligados al envejecimiento prematuro. Es clara la asociación de estrés crónico y enfermedades cardiovasculares así como la resistencia a la insulina y también el acortamiento de los telómeros, que se ha demostrado en tales enfermedades. En los últimos años la dupla telómero/telomerasa ha sido el eje de múltiples investigaciones acerca del envejecimiento, senescencia, cáncer e inmortalidad que pretenden explicar estos fenómenos y contribuir a su entendimiento.

Los telómeros son estructuras compuestas de ADN y proteínas que se localizan al final de los cromosomas, son esenciales en mantener la estabilidad e integridad del genoma y están relacionados con el reloj biológico y la prolongación de la vida. La telomerasa y las proteínas asociadas al telómero son necesarias para la preservación de la longitud telomérica que está directamente relacionada con la prolongación de la vida.

La telomerasa es una enzima capaz de replicar el ADN a nivel de los telómeros donde se encuentre presente la proteína catalítica llamada hTERT, que es la ADN polimerasa encargada de sintetizar ADN telomérico y que a diferencia de hTR (telomerasa ARN), restituye y mantiene la longitud de los telómeros evitando que las células entren en el fenómeno de senescencia celular o muerte celular.

Los mecanismos por los cuales el estrés impacta al organismo a nivel celular son desconocidos, pero vías probables pueden dar la respuesta tales como el estrés oxidativo, actividad de la telomerasa y disfunción inmuno celular. Los individuos crónicamente estresados tienen menor actividad de telomerasa y a menudo muestran perfiles alterados de glucocorticoides. Bajos niveles de telomerasa y telómeros cortos han sido asociados con alta excreción de metabolitos de hormonas del estrés.

Estudios experimentales han demostrado que la exposición de los linfocitos in vitro a altos niveles de cortisol pueden disminuir el nivel de actividad de la telomerasa.

El perfil del sistema nervioso autónomo ha sido asociado con el estrés crónico, aumento de la tensión arterial y frecuencia cardíaca y disminución de la actividad de la telomerasa .

Por otra parte el estrés oxidativo es conocido que acorta los telómeros e inhibe la actividad de la telomerasa en las células in vitro.

Los niveles bajos socio-económicos , cuadros depresivos, maltrato en niños y enfermedades mentales, parecen tener relación con el acortamiento de los telómeros y por ende, con el envejecimiento prematuro.

### **1. OBJETIVOS.**

La presente revisión pretende analizar los mecanismos de envejecimiento celular y acortamiento de telómeros, así como dilucidar las teorías moleculares acerca de cómo el estrés crónico conduce a un envejecimiento celular acelerado.

Analizar la relación entre trastornos psicopatológicos y el acortamiento de los telómeros con particular atención a la depresión, esquizofrenia, y trastornos afectivos.

### **2. MATERIAL Y METODOS.**

La presente revisión bibliográfica se ha llevado a cabo mediante la obtención de estudios clínicos, artículos de revisión encontrados a través de los buscadores: Google, MurciaSalud, Medline, Pubmed y The Cochrane Library, bajo las palabras clave: “ stress”, “telomeres” y “aging” (estrés, telómeros y envejecimiento).

### **3. HISTORIA .**

¿Cuál es la naturaleza del reloj biológico que determina el envejecimiento de las células?. ¿De qué manera se explica la génesis de las enfermedades asociadas con el envejecimiento?. Las anteriores son sólo algunas de las preguntas cuya respuesta puede ser hallada en el marco del modus operandi de la dupla telómeros-telomerasa, convertida en objeto de estudio para un sin número de hombres y mujeres de ciencia, desde los pioneros Hermann Müller y Bárbara McClintock hasta los más recientes Jack Szostak, Elizabeth Blackburn y Carol Greider, entre otros.

Cuando en 1938, el joven genetista norteamericano Hermann J. Müller trabajaba en el Instituto de Genética Animal de Edimburgo (Reino Unido) con moscas de la especie *Drosophila melanogaster* expuestas a rayos X, no alcanzó a vislumbrar la trascendencia que más adelante tendrían sus hallazgos en el campo de la biología molecular y de la genética. Acababa de observar que en los extremos de los cromosomas irradiados, a diferencia del resto del genoma, no había cambios como deleciones o inversiones, gracias a la presencia de un casquete protector que él mismo inicialmente llamó “gen terminal” y después “telómero”, del griego “telos” (fin) y “meros” (parte) <sup>1</sup>.

Dos años más tarde, Bárbara McClintock, investigadora de la Universidad de Missouri (Colombia, Missouri), que se dedicaba al estudio de la genética del maíz (*Zea mays*), describió cómo la ruptura de los cromosomas resultaba en adhesión y fusión de sus extremos, con la consecuente formación de cromosomas dicéntricos. Demostró que a pesar del daño, los extremos se podían restaurar gracias a la adquisición de nuevo telómero. Según sus conclusiones, los telómeros jugaban un papel crucial en la integridad de los cromosomas, pues prevenían la aparición de ciclos de “ruptura-fusión-puente” catastróficos para la supervivencia celular <sup>2</sup>.

El término “telómero” acuñado por Müller tuvo en apariencia carácter premonitorio; aunque todo apuntaba hacia un futuro inmediato promisorio, el escepticismo predominante en la época hacia lo que tuviera relación con el campo de la genética, hizo que la investigación sobre la importancia de los extremos de los cromosomas en la replicación y la integridad de la célula cesara abruptamente. No se reanudó sino 30 años después cuando comenzaron a ser desvelados los mecanismos subyacentes a la replicación del ADN, hecho donde el trabajo de James Watson (el mismo que descubrió la estructura doble helicoidal del ADN) revistió una singular importancia. Él identificó el “problema de la replicación terminal”, consistente en la incapacidad de las células para copiar por completo los extremos del ADN lineal.

Postulaba Watson que, por las especiales características en la síntesis de la cadena rezagada del ácido nucleico, que hacen que el ADN polimerasa no pueda replicar por completo su extremo 3', los telómeros y, por tanto, los cromosomas se acortaban.

Propuso, además, la existencia de un mecanismo de protección para prevenir el acortamiento cromosómico <sup>3</sup>.

Por la misma época, Alexsei Matveevich Olovnikov, un desconocido científico ruso, halló el eslabón entre el problema de la replicación terminal —enunciado por Watson— y la senescencia celular, a su vez previamente descrita por Leonard Hayflick. Según Hayflick y Moorhead<sup>4</sup>, la senescencia correspondía a un estado de detención de la proliferación, al que ingresaban las células somáticas humanas con signos de alteraciones bioquímicas y morfológicas como producto de haber sobrepasado su capacidad límite de división.

Para Olovnikov, el problema de la replicación terminal era la causa del acortamiento progresivo de los telómeros, que a su vez, actuaba como un reloj interno para determinar el número de divisiones que la célula podía experimentar a lo largo de su existencia y, por ende, para controlar el proceso de envejecimiento<sup>5,6</sup>. El modelo propuesto demostró tener una impresionante exactitud, en la actualidad, se acepta no sólo que el acortamiento telomérico es la principal causa de la senescencia celular, sino que en realidad el reloj molecular cuenta el número de ciclos que la célula puede soportar<sup>7</sup>.

Al igual que James Watson, Aleksei Olovnikov, pensaba que la célula poseía una estrategia para mantener la longitud telomérica durante la replicación normal del ADN. No tardó mucho tiempo en descubrirse que esa estrategia tenía nombre propio. Era la telomerasa, enzima transcriptasa reversa, en cuyo descubrimiento jugó más tarde un papel crucial Elizabeth Blackburn, investigadora oriunda de Tasmania.

Blackburn y Joseph Gall, biólogo de la Universidad de Yale iniciaron en 1975 su trabajo con *Tetrahymena thermophila*, protozoo ciliado que, a diferencia de otros organismos eucariotas, posee además de un micronúcleo con los cromosomas normales, un macronúcleo donde se encuentran cromosomas fragmentados en múltiples segmentos pequeños de ADN con el mismo gen codificante para ARN ribosomal. Fue entonces posible determinar la secuencia del ADNr extracromosómico en cuyos extremos aparecieron múltiples repeticiones del hexanucleótido CCCAA, que también se encontraron en el micronúcleo<sup>8</sup>. Sin embargo, el hallazgo trajo consigo dudas: ¿se trataba acaso de una rara propiedad de un gen extracromosómico en un organismo ciliado que además no formaba parte de la línea evolutiva principal eucariota? o ¿era quizá una auténtica secuencia telomérica?

La cuestión quedó sin resolverse hasta que Blackburn decidió asociarse con Jack Szostak, biólogo molecular y genetista de la Escuela de Medicina de Harvard, en unión ciertamente venturosa que por último condujo al descubrimiento de las secuencias teloméricas y de la enzima que las sintetiza. El trabajo de Szostak, infructuoso hasta ese momento, consistía en construir cromosomas artificiales que permitieran clonar grupos grandes de genes humanos en una sola molécula lineal de ADN de levadura como vector. Los resultados fueron desalentadores, por cuanto los cromosomas así generados eran inestables y no se replicaban, debido quizá a la carencia de telómeros. Pero cuando Szostak decidió probar si las secuencias repetitivas descubiertas por Blackburn y Gall podrían actuar como telómeros en su experimento con *Saccharomyces cerevisiae*, los resultados fueron contundentes: los plásmidos lineales de la levadura —ensamblados a partir del vector y de los extremos teloméricos del ADNr de *T. thermophila*— se replicaron de manera estable. Blackburn y Szostak concluyeron que si la levadura era capaz de reconocer y utilizar tales extremos propios de un organismo tan distante evolutivamente, este hecho constituía evidencia razonable acerca de la alta conservación evolutiva de los mecanismos de replicación de los telómeros. El hallazgo estaba ligado a otro no menos importante: cuando mediante mapas de restricción y ensayos de hibridización analizaron los extremos del ADNr de *T. thermophila*, así como los fragmentos de levadura que suponían podrían actuar como telómeros, encontraron que las secuencias teloméricas eran comunes a ambos organismos<sup>9,10</sup>. Por otra parte, los plásmidos replicados tenían una mayor longitud, explicable si se consideraba que la estrategia de las células de levadura quizás consistía en añadir nuevas secuencias repetitivas a los extremos de las secuencias repetitivas de *T. thermophila*. Así, Blackburn y Szostak sugirieron que la elongación de los telómeros se debía a la actividad de una enzima desconocida que sintetizaba telómero, después llamada telomerasa<sup>11</sup>.

Habían creado pues Blackburn y Szostak no sólo el primer ensayo funcional para telómeros del que se tenga noticia, sino también sentado las bases para la ulterior construcción de los primeros cromosomas artificiales de levadura, los famosos YACs<sup>12</sup>, que se emplearon más adelante en el desarrollo del Proyecto Genoma Humano, con el objeto de clonar segmentos grandes de ADN humano, que se pudieran secuenciar posteriormente<sup>13,14</sup>.

Sin contar aún con una explicación satisfactoria para aclarar la verdadera razón por la que los plásmidos replicados en su trabajo con Szostak tuvieron una mayor longitud, Elizabeth Blackburn y su estudiante Carol Greider emprendieron años más tarde en la Universidad de California el memorable trabajo que las llevó a proponer la existencia de una actividad enzimática a la que no dudaron en llamar «transferasa telómero terminal», en realidad la misma telomerasa. Utilizaron extractos de células de *T. thermophila* y primers o cebadores sintéticos constituidos por secuencias idénticas a las presentes en los telómeros de células de levadura y de *T. thermophila*. Sus resultados demostraron la síntesis de novo de las repeticiones en

tándem TTGGGG, que se añadían a los oligonucleótidos iniciadores de la elongación, gracias a la actividad de la nueva enzima por ellas descrita<sup>15</sup>.

Los resultados obtenidos por Blackburn y Greider<sup>15</sup> marcaron un hito en la investigación de la biología de los telómeros, pues dilucidaron la aparente contradicción entre dos hechos comprobados de manera irrefutable: primero, el acortamiento progresivo de los telómeros durante cada división celular y segundo su replicación, proceso que ocurre en forma independiente a la del resto del ADN cromosómico. Mientras el ADN no telomérico utiliza para su replicación la enzima ADN polimerasa, el ADN de los telómeros se vale de un template constituido por ARN que adiciona nuevas repeticiones teloméricas. Éste forma parte integral de la molécula de telomerasa y es en realidad el molde sobre el que se genera la copia del telómero, en un proceso denominado transcripción reversa. Además de la subunidad ARN (TR), la telomerasa presenta una subunidad catalítica (TERT). Ausente o poco expresada en las células somáticas, la telomerasa se encuentra en las células embrionarias, las germinativas (ovogonias y espermatogonias), así como en la mayoría de las células transformadas (líneas celulares inmortalizadas y células cancerosas), donde contrarresta el problema de la ausencia de replicación en los extremos teloméricos<sup>(16,17)</sup>.

En la actualidad se acepta que la longitud de los telómeros y la expresión de la enzima telomerasa varían considerablemente con la edad y con el tipo celular, lo que ha justificado su utilización como biomarcadores que permitan evaluar la historia y el potencial replicativo en tejidos y en grupos etáreos diferentes. Así, en la mayoría de éstos, ha sido posible identificar un patrón aproximado de dinámica telomérica y de expresión de telomerasa. Al respecto, es interesante resaltar que en la génesis de ciertas entidades como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad coronaria y el cáncer, entre otras<sup>16-22</sup>, juega un papel clave la diferencia entre la edad biológica (predicha con base en la longitud telomérica) y la edad cronológica. Por otra parte, la expresión de la telomerasa se ha asociado mediante sólida evidencia, con la oncogénesis y con la inmortalización celular, razones poderosas que han servido para proponerla no sólo como elemento diagnóstico sino además como blanco terapéutico en el tratamiento del cáncer<sup>23</sup>.

En las células normales, el acortamiento que sufren los telómeros durante la división celular constituye un mecanismo supresor tumoral que «obliga» a que las células salgan del ciclo celular y entren en un estado irreversible de senescencia<sup>24</sup>, donde cesan de dividirse y finalmente mueren. No obstante, en el proceso de transformación tumoral, la senescencia es también un importante factor de riesgo<sup>25,26</sup>: existe amplia evidencia que demuestra que puede ser eludida por célula con telómeros cortos que han comenzado a expresar telomerasa. En este caso, la célula «fugitiva» adquiere un nuevo estatus, pues se transforma no sólo en maligna, sino además en inmortal, gracias a la acción estabilizadora que la enzima ejerce sobre los telómeros<sup>27</sup>. Pero la senescencia no es sólo un estado de detención del crecimiento celular: también implica cambios en la expresión de ciertos genes y torna las células resistentes a la apoptosis<sup>25,28</sup>. Esto explica por qué las células senescentes pueden acumularse en los tejidos y contribuir así tanto al proceso de envejecimiento, como a la génesis de las enfermedades asociadas. Cuando esto ocurre, se manifiestan alteraciones patológicas hiperplásicas o premalignas, lo que favorece la teoría que propone el desarrollo del cáncer como dependiente de la edad, quizá debido a la suma de múltiples mutaciones<sup>29,30</sup>. Así pues, la senescencia ejerce un efecto protector contra el cáncer a edades tempranas mientras que, a mayores edades promueve el fenotipo típico del envejecimiento<sup>25</sup>.

No deja de sorprender que mecanismos supresores tumorales como el acortamiento telomérico y por ende la senescencia, puedan estimular el desarrollo del cáncer en las etapas tardías de la vida. Esta aparente paradoja ha llevado en la última década a que muchos hombres y mujeres de ciencia escudriñen en el dúo telómeros-telomerasa, con el fin de descubrir la hasta ahora oculta clave de la inmortalidad o bien, de desvelar el secreto de la malignidad que tan celosamente guarda.

#### **4. MARCO TEÓRICO.**

##### **4.1. TELÓMEROS: Estructura y función**

Los telómeros son el final de los cromosomas eucarióticos y consisten en repeticiones en tándem de una secuencia corta de ADN rica en guaninas. Están constituidos por secuencias de ADN altamente conservadas (TTAGGG)<sub>n</sub> y proteínas asociadas “shelterinas”, éstas sirven como envoltura, la cual recubre la secuencia telomérica del ADN, actúan como señal molecular para prevenir el daño al ADN<sup>9,31,34</sup>, impiden la fusión telomérica inhibiendo su unión a los extremos de otros cromosomas.

El complejo telomérico está compuesto por secuencias de ADN no codificante en tándem, rico en guanina que se extienden varias miles de bases pareadas y finaliza en una simple cadena con un 3' en forma de asa, la enzima telomerasa, y varias proteínas asociadas con roles estructurales y regulatorios que participan en el control de la longitud del telómero y sus propiedades de casquete o protección a las puntas de los cromosomas. Estas proteínas protectoras son llamadas

colectivamente “shelterinas” (TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPPI y RAP1). El final 3' de la cadena o hebra cebadora, termina como una cadena simple en forma de asa que se repliega hacia atrás e invade la hélix de doble cadena telomérica, formando una asa en “T” y se aparea en sus bases con una de las dos cadenas. A esta triple estructura se le llama “asa D”. El modelo actual es que los telómeros pueden adoptar dos conformaciones diferentes, la primera un telómero “abierto” que sería accesible a la telomerasa y a otras actividades celulares, y un telómero “cerrado” en el cual la cadena 3' protuberante del telómero (G-strand overhang) invade la parte de doble banda del telómero formando una estructura en lazo, denominada T-loop.<sup>(32,34)</sup>

Los telómeros cumplen un rol esencial en la preservación de la integridad cromosómica, protegiendo al ADN codificante de la acción enzimática y la degradación, contribuyendo al mantenimiento de la estabilidad cromosómica; median importantes interacciones entre los cromosomas y la matriz nuclear, pudiendo además ejercer efectos sobre la transcripción de genes situados en regiones subteloméricas e interactúan con los mecanismos regulatorios del ciclo celular. Los telómeros compensan por la incompleta replicación semi-conservativa del ADN. La protección en contra de recombinación homóloga y no homóloga, constituye el rol esencial conocido como el “capping rol” o fenómeno de casquete en las puntas de los cromosomas tal y como si fueran unas cintas de zapatos que impiden que se deshilen.<sup>34</sup>

En contraste con las secuencias codificantes que tienen una replicación semiconservativa, los telómeros sufren pérdidas progresivas de sus secuencias repetitivas durante las sucesivas divisiones celulares. Actualmente se considera que se requiere un mínimo de longitud telomérica para mantener la función de los telómeros, y que cuando los mismos alcanzan un tamaño crítico, tienen dificultades para separarse durante la mitosis, generando asociaciones teloméricas (tas) e inestabilidad cromosómica. Dicha inestabilidad cromosómica estaría relacionada a un aumento en la probabilidad de producir errores capaces de generar cambios genéticos de importancia para el proceso de desarrollo neoplásico, tales como amplificación génica y pérdida de la heterogeneidad.<sup>35,36</sup>

A diferencia de los organismos procariotas que tienen un genoma circular, los organismos eucariotas, poseen cromosomas lineales en los cuales se presenta el problema de su acortamiento durante la replicación, debido a que al eliminar el cebador de los fragmentos de Okazaki del extremo 5' de la cadena retardada del telómero del nuevo cromosoma lineal, se produce un hueco que no puede ser rellenado por acción de la ADN polimerasa, puesto que sólo funcionan en dirección 5' → 3' y necesitan un extremo 3' OH y completar la síntesis del último fragmento de Okazaki.<sup>37</sup>

De esta manera, en las células somáticas ya maduras, se acortan los telómeros a razón de 15 a 25 nucleótidos en cada proceso replicativo. El promedio de longitud de los telómeros en los leucocitos humanos al nacer es de 11 kb (cordón umbilical), comparados con 6 kb a los 90 años de edad. La pérdida de los telómeros es más rápida durante la vida temprana y no es lineal sino que sigue un tercer orden polinomial.<sup>(38,39)</sup>

## 4.2. TELOMERASA.

### 4.2.1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

La telomerasa descubierta por Blackburn y Greider en 1985, es una enzima formada por un complejo proteína-ácido ribonucleico con actividad polimerasa que está presente en células de la línea germinal, en tejidos fetales, y en ciertas células madre poco diferenciadas, y que permite el alargamiento de los telómeros. También se encuentra en organismos eucariotas unicelulares. La telomerasa es reprimida en las células somáticas maduras después del nacimiento, produciéndose un acortamiento del telómero después de cada división celular.<sup>39</sup>

En su artículo original Blackburn describe a la telomerasa como una enzima que fabrica ADN de manera atípica, es decir, se encarga de la adición de desoxiribonucleótidos a los extremos de los telómeros, pero dicha adición está dirigida por una secuencia de ribonucleótidos o ARN, por lo que de hecho se trata de una transcriptasa inversa de características especiales que solucionó el problema del fin de la replicación en los organismos eucarióticos.<sup>39</sup>

La telomerasa comprende dos principales subunidades:

- Componente ribonucleotídico: se trata de la porción de ARN, llamado también (TER) que se encuentra totalmente integrado a la enzima.
- Componente proteico. Es la parte de la enzima que contiene la capacidad de transcriptasa inversa (hTERT del inglés telomerase reverse transcriptase), invierte el curso normal (ADN hacia ARN) y va del ARN al ADN, transcribiendo el ARN a ADN. Dicha transcripción inversa en los telómeros es la actividad telomerasa propiamente dicha. La

transcriptasa inversa del virus y resto de ADN polimerasas, necesitan un cebador para sintetizar ADN, sin embargo, la telomerasa no necesita dicho cebador.

La unidad catalítica de la telomerasa contiene dos copias de cada TERT , TER , y una proteína llamada diskarina y otras proteínas asociadas.

En ausencia de actividad de la telomerasa los telómeros progresivamente se acortan . La actividad de la telomerasa está ausente en la mayoría de las células humanas somáticas porque carecen de la expresión del TERT ; el TER está usualmente presente. Por otro lado la mayoría de las células del ratón tienen actividad de telomerasa ( Blasco 2005). Sin telomerasa , el acortamiento de los telómeros eventualmente limita el crecimiento de las células , ya sea porque éstas entran a un estado de senescencia produciendo un bloqueo en la fase de G1 del ciclo celular, o por crisis en las células con ciclos celulares inactivados ( la crisis celular se refiere a fusiones de los extremos teloméricos que causan rompimientos cromosómicos y catástrofes mitóticas .

La expresión del TERT en células que carecen de actividad de telomerasa causa que dichas células eviten la senescencia y la crisis mitóticas, por lo cual pasan a un estado de inmortalización <sup>(40,41,42)</sup>.

#### **4.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN .**

La cadena de ADN que sirvió de molde para la replicación ( ya que la replicación es semiconservativa, y por lo tanto, cada célula hija hereda una cadena antigua y otra de nueva síntesis ) no está apareada con la cadena de nueva síntesis debido a la eliminación del cebador antes citado . El trozo de molécula de ADN telomérico no apareado presenta repeticiones en tándem ( en humanos hay centenares de repeticiones de la secuencia TTAGGG) que siempre son ricas en guanina ya que su apareamiento con el nucleótido citosina se realiza mediante tres enlaces de hidrógeno en lugar de dos como en el caso de la adenina con timina , lo que confiere mayor estabilidad al telómero.

La telomerasa reconoce dichas secuencias y va a realizar una extensión del telómero en dirección 5'-3' utilizando como molde para la síntesis de ADN, su propia molécula de ARN sin necesidad de cebador alguno.

La enzima hibrida su molde de ARN con el ADN del telómero y añade las bases de una a una hasta completar la secuencia de ADN complementaria a su ARN . Tras esto, se desplaza más adelante y repite este mecanismo, construyendo de este modo el telómero de forma discontinua.

De esta manera , tras sucesivos ciclos de extensión la enzima va a producir un extremo 3'libre más largo que el existente al final de la replicación , extremo que deja espacio para que se una un cebador y se inicie la síntesis de la cadena retardada ( lagging strand) en la otra por acción de las ADN polimerasas dando lugar a un telómero bicatenario.

Tras esto se produce el ligamiento del nuevo fragmento por una ligasa y se elimina el último ARN cebador , pero sin consecuencias ya que se ha conseguido mantener e incluso aumentar la longitud del telómero. <sup>(37)</sup>

#### **4.2.3. TELOMERASA Y LA SENESCENCIA CELULAR : RELOJ ENDÓGENO.**

La biología del telómero y la actividad de la telomerasa, ¿ determinan el proceso de envejecimiento?.

El primer aspecto a esta pregunta es si las diferencias en el proceso de envejecimiento en las especies de mamíferos son causadas en todo o en parte por las diferencias específicas en la biología de la dupla telómero/ telomerasa. Una breve consideración a este hecho mostrará que esto es improbable. Los ratones viven poco comparados con los seres humanos, aún a pesar de que los ratones tienen telómeros más largos y que las células somáticas del ratón adulto a menudo tienen actividad de telomerasa. ( Blasco, 2005) <sup>42</sup>. Por otro lado , los humanos tienen relativamente telómeros cortos , aún cuando se comparan a los primates <sup>43</sup> , y la actividad de la telomerasa es muy baja en la mayoría de las células , excepto para algunos tipos de células madre , germinales , y algunas somáticas como los linfocitos T <sup>44</sup>. Si el acortamiento de los telómeros fuera la mayor causa de envejecimiento uno esperaría que los seres humanos fueran susceptibles a este proceso y los ratones fuesen resistentes, es obvio que el promedio de vida de los humanos sugeriría que las diferencias en la biología de los telómeros no es un mayor determinante del promedio de vida entre los mamíferos<sup>45</sup>.

La senescencia celular es el proceso por el cual , una célula adquiere con el tiempo ó con sucesivas divisiones , la incapacidad de reproducirse . Hace más de 30 años , Hayflick observó la senescencia replicativa en fibroblastos mantenidos en placas de cultivo. Publicó que éstos dejan de dividirse tras unas 50 divisiones, manteniéndose metabólicamente activas pero sin proliferar, hasta morir con el paso del tiempo. Esto puede ser debido al acortamiento de las regiones teloméricas. La senescencia replicativa involucra las vías de p53 y pRb y conduce al paro de la proliferación celular .



Se piensa que la senescencia juega un importante rol en la supresión de la emergencia del cáncer. ( Campisi 2005)<sup>46</sup>.

Mientras, por otro lado, las células sujetas a dosis sub-letales de estrés tales como irradiación o daño oxidativo, entran en un estado que es similar a la senescencia replicativa, a este estado se le ha denominado senescencia inducida por el estrés o ( SIPS) por sus siglas en inglés ( stress-induced premature senescence ). Se cree que la SIPS es causada por un acortamiento rápido de los telómeros resultado del daño al ADN<sup>47</sup>.

Las células normales humanas en cultivo no se dividen indefinidamente, y después de doblar su población 60 veces, entran en un paro de crecimiento irreversible llamado senescencia replicativa. Estas células están caracterizadas por aumento del volumen celular y una morfología plana y presencia de actividad SA-Beta gal, elevada expresión de p16 y p21 una Rb hipofosforilada <sup>48</sup>.

Las células que sufren senescencia inducida por estrés ( SIPS) muestran todas las características de las células senescentes replicativas. Los eventos moleculares que desencadenan SIPS no están del todo claros, pero se ha observado que los telómeros se acortan de 5-10 veces más rápido en células que crecen en hiperoxia crónica (H2O2 ),

Se ha sugerido que la inducción del paro del ciclo celular dependiente del p53 vía generación de daño no específico y específico al telómero y al ADN, desencadena la senescencia inducida por estrés<sup>47,48</sup>.

Existe un tercer tipo de senescencia, es el llamado inducido por oncogenes o Ras –inducido, el cual es telómero-independiente y no puede ser afectado por la sobre expresión del hTERT <sup>49</sup>.

Sin embargo la expresión del oncogén Ras desencadena la senescencia vía proteína-kinasa mitogénico activada ( MAPK ) , la cual probablemente sea una vía distinta de la senescencia inducida por el daño al DNA<sup>50</sup>.

Se piensa que la senescencia juega un rol importante en la supresión de la emergencia del cáncer. Las células que entran a la proliferación después de la inactivación de las vías del p53 y pRb sufren “crisis”, que es caracterizada por grandes distorsiones cromosomales y por inestabilidad en su genoma. En esta etapa casi todas las células mueren. Son raras y escasas las células que sobreviven , éstas se hacen inmortales por elongación de los telómeros o por activación de la telomerasa o ALT ( líneas celulares que demuestran que los telómeros son altamente heterogéneos en longitud y que se recombinan.. Estas líneas celulares producen abundantes círculos –T ( Reddel, 1999: Reedel and Bryan 2003. Tomaska et al 2000:2009)

**Pruebas que relacionan la telomerasa y las senescencia.** Recientes estudios con esta enzima han demostrado que la introducción de la telomerasa en células somáticas produce la regeneración de los telómeros . Es decir, anula el proceso de envejecimiento y muerte celular . En 1998, Bodnar y col. introdujeron en dos tipos células humanas normales ( telomerasas-negativas ) el gen que codifica a la telomerasa . En contraste con las células normales que mostraban senescencia y un acortamiento de los telómeros , los clones que expresaban la TERT mostraron telómeros elongados , se dividían vigorosamente y mostraron una reducción de la beta –galactosidasa, un biomarcador de de la senescencia . Las células transformadas para expresar la TERT mostraron un cariotipo normal y su longevidad ha superado la normal en más de 20 divisiones.

El equipo de María A. Blasco demostró en 2008 ( Tomás-Loba y cols.2008 ) que la relación entre los telómeros y el envejecimiento también funcionaba en mamíferos. Los ratones tratados con telomerasa envejecen más tarde y viven hasta un 40 % más. Según Blasco “ Este descubrimiento sugiere que el progresivo acortamiento de los telómeros y la acumulación de telómeros disfuncionales constituye la principal fuente de daño durante el paso de los años, que es capaz de forzar cambios genéticos y epigenéticos suficientes para provocar el envejecimiento del organismo “.

#### 4.2.4. TELOMERASA Y CÁNCER.

La actividad de la telomerasa está sobreexpresada en la mayoría de los tumores humanos, mientras que está ausente o presente a bajos niveles en la mayor parte de los tejidos adultos <sup>51</sup>. Se ha demostrado que la introducción del Tert ( transcriptasa inversa ) en células humanas en cultivo es suficiente para reconstituir actividad telomerasa y para permitir el crecimiento inmortal de estas células<sup>52</sup>, asimismo , la telomerasa coopera con oncogenes en el proceso de transformación de células normales en tumorales <sup>53</sup>,

Estos descubrimientos indican que la sobreexpresión de la telomerasa en tumores <sup>51</sup> podría estar contribuyendo activamente al crecimiento tumoral <sup>54</sup>. De acuerdo con esto, la inhibición de telomerasa en tumores sería una manera efectiva de frenar el crecimiento tumoral..

La inestabilidad cromosómica fue originalmente postulada por Boveri en 1914 como evento fundamental de los tumores. Experimentos en células y modelos animales condujeron a la teoría que el acortamiento de los telómeros es el mecanismo para pérdida y ganancia de cromosomas. Cuando el mantenimiento telomérico está trastornado en experimentos con levaduras, las pocas células que escapan o salen de la senescencia muestran anomalías cromosómicas y en ausencia de telomerasa, el número de mutaciones aumentan como resultado de deleciones terminales, o ciclos repetidos de rompimiento-fusión cromosómicos<sup>15,16</sup>. En estudios animales en el ratón libre de Terc –( Knockout mice), es decir sin el gen de la telomerasa, la última generación de ellos muestra telómeros cortos que causan inestabilidad a través de fusiones término-término. La apoptosis remueve la mayoría de estas células, pero algunas pueden ser rescatadas si el daño al ADN no ha sido adecuadamente supervisado por la maquinaria reparadora de éste. Por otro lado, en ratones con el gen de la telomerasa positivo y con deficiencia de p53, se desarrollan una variedad de cánceres en asociación con translocaciones no –recíprocas, parecidas a aquellas del cáncer humano<sup>55</sup>.

En humanos, los estudios a menudo están limitados por la necesidad de medir los telómeros en los leucocitos, sin embargo la longitud telomérica ha sido ligada a varios tipos de cáncer. Los hallazgos de telómeros cortos en el cáncer colorectal sugiere que la pérdida de telómeros contribuye a la formación de neoplasias<sup>56</sup>. Las células cancerosas expresan alta actividad de telomerasas, aunque hay tumores telomerasa negativos.

Estudios del genoma humano han mostrado que los polimorfismos en el gen del TERT parecen estar ligados a una mayor frecuencia de cáncer, sin embargo el riesgo es mucho más bajo que los riesgos propios de enfermedades individuales..

En sumario, el acortamiento de los telómeros puede relacionarse con el riesgo de padecer cáncer, y va desde alto para los pacientes con disqueratosis congénita a una modesta contribución a la oncogénesis en general. En algunas enfermedades inflamatorias e inmunes, el acortamiento de telómeros puede ser un factor crítico en promover el desarrollo de cáncer<sup>57</sup>.

### 4.3. ESTRÉS

#### 4.3.1. CONCEPTO ESTRÉS.

El primer concepto de estrés fue formulado por el neurólogo y fisiólogo norteamericano Walter Cannon, quien en 1929, lo definió como “todo agente capaz de inducir una respuesta en el mecanismo homeostático del cuerpo”. Sus experiencias pusieron de manifiesto la importancia del sistema nervioso simpático (SNS) y de la liberación de las catecolaminas meduloadrenales en respuesta a diversos “agentes estresantes”, ya sean estos tanto estímulos físicos como sucesos psíquicos o emocionales ante las situaciones de emergencia. Cannon observó que el grado de respuesta obtenido guardaba una relación proporcional con la intensidad del estímulo estresante hasta un punto por él denominado “nivel crítico de estrés”, a partir del cual los mecanismos homeostáticos eran incapaces de restaurar el funcionamiento normal del organismo. Estas catecolaminas eran pues esenciales para desarrollar las estrategias de lucha o de huida<sup>58</sup>. La organización de esta homeostasis existe a nivel molecular, celular, fisiológicos y conductuales niveles. El estrés es un estado de amenaza para este equilibrio, y la adaptación al estrés, o alostasis, confiere una ventaja en la supervivencia<sup>59</sup>.

El estrés fue considerado físicamente y psicológicamente nocivo para el individuo y este daño se relacionó con la hiperactividad adrenal y pituitaria, que ocasiona cambios anómalos que revierten una vez que el funcionamiento del eje HPA se normaliza<sup>60</sup>. Hans Selye, años más tarde, establece su propia definición de “estrés” como una “respuesta no específica del organismo frente a cualquier estímulo aplicado sobre él”; los estímulos capaces de desarrollar esta respuesta son considerados, en esta definición, como agentes estresantes, proponiendo el término “síndrome general de adaptación” SGA, siendo su finalidad, como hemos visto, la de preparar al organismo para contrarrestar los efectos de dichos agentes en una primera fase, y la de desarrollar mecanismos adaptativos que conduzcan a la supervivencia en un segundo nivel<sup>58</sup>. Se acepta en la actualidad que la respuesta al estrés protege al individuo y que la adaptación es una respuesta aprendida, de importancia para enfrentar situaciones estresantes futuras. No obstante, cuando el estrés es repetitivo y duradero, la respuesta adaptativa se ve afectada y sobrevienen trastornos como hipercortisolismo, hipertensión, compromiso inmunológico y deterioro psicológico<sup>60</sup>.

#### 4.3.2. CAUSAS Y MODELOS DE ESTRÉS:

Con posterioridad Hans Selye agrega, en 1974, dos conceptos diferentes a tener en cuenta: **el de estrés**, para designar al sistema de respuesta normal con el cual convivimos, **versus el de distrés**, como el sistema de respuesta anormal o patológica. Mason, en 1968, hizo un aporte muy interesante al decir que el estresor, es decir el estímulo estresante, debe ser extraño, y que para que el mismo produzca una respuesta, debe haber sido previamente evaluado cognitivamente por el individuo. Es decir, que no influye tanto el estresor en sí mismo, sino la evaluación que se realice de esa situación de



amenaza. Cualquier suceso que genere una respuesta emocional, puede causar estrés. Esto incluye tanto situaciones positivas (el nacimiento de un hijo, matrimonio) como negativas (pérdida del empleo, muerte de un familiar). Asimismo, situaciones que provocan estrés en una persona pueden ser insignificantes para otra.

El estrés es universal e inherente a los seres vivos, porque es un mecanismo de adaptación psicológica y orgánica a cambios del ambiente interno y externo (biopsicosocial). Existen muchos ejemplos o modelos de estrés real y simulado, agudo y crónico, así: físico (trauma, cirugía, quemaduras, infecciones), académico (exámenes), psicológico o emocional (problemas interpersonales, disgustos), metabólico (deshidratación, hemorragias, cetoacidosis, hipoglicemia), farmacológico (cocaína, anfetaminas, hipoglicemias, 2-deoxi-Dglucosa), vuelos espaciales, ejercicio físico, cuidado de enfermos crónicos especialmente con demencia tipo enfermedad de Alzheimer, aislamiento sobre todo en áreas inhóspitas, desastres naturales y estrés postraumático, y estrés celular. Todos los seres vivos experimentan y requieren estrés para adaptarse a nuevas condiciones a menudo lesionantes; también sufren estrés las bacterias y los virus<sup>60</sup>.

Investigar una causa específica de estrés en la vida cotidiana es difícil porque ordinariamente confluyen muchos estímulos y variables ambientales, físicas, psíquicas y emocionales que afectan al sistema de estrés y al inmune; sin embargo, la investigación en humanos y modelos animales está revelando la fisiología y patología del estrés.

El conjunto total de síntomas, consecuencia de la acción de los diversos agentes estresantes, fue definido como **SÍNDROME GENERAL DE ADAPTACIÓN (SGA)** y su finalidad, como hemos visto, es la de preparar al organismo para contrarrestar los efectos de dichos agentes en una primera fase, y la de desarrollar mecanismos adaptativos que conduzcan a la supervivencia en un segundo nivel. Este último corresponde a las observaciones de Selye relativas a una activación del eje hipófiso-adrenal, desencadenándose una serie estereotipada de respuestas frente a la liberación de las hormonas corticoadrenales (Selye, 1946).

Sin embargo, el SGA comprende en total tres fases<sup>58</sup>:

La primera corresponde a la **REACCIÓN DE ALARMA**, ya descrita por Cannon, cuya causa es una estimulación simpática generalizada y mantenida a corto plazo por las catecolaminas meduloadrenales.

Su base fisiológica se corresponde con cambios en el sistema simpático adrenomedular; a su vez, la activación de este sistema se relaciona con aumento de la actividad del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA)<sup>61</sup>.

Su objetivo es movilizar los recursos corporales para la respuesta inmediata del organismo ante la posibilidad de una reacción de huida o de lucha (Gray, 1971). Al depender del sistema nervioso simpático y de las catecolaminas meduloadrenales, el mantenimiento a largo plazo de esta primera respuesta supone un notable costo energético.

Por lo tanto, la reacción es tan rápida como pasajera lo que la convierte en insuficiente cuando los estímulos desencadenantes persisten, sin embargo resulta suficiente cuando la actuación del agente estresante es temporal o cuando sólo se precisa una respuesta aguda de ajuste.

De esta forma, si la exposición al estímulo continúa, se inicia la segunda fase denominada **FASE DE ADAPTACIÓN O DE RESISTENCIA**. En esta etapa, Selye describe una hipertrofia adrenal cuya causa reside en la activación de mecanismos endocrinos que permiten una regulación a largo plazo ejercida a través de la parte cortical de esta glándula (Selye, 1937)<sup>58</sup>. La exposición continua al estímulo estresante provocará una adaptación de los sistemas endocrino e inmunitario, que se corresponde con hipertrofia adrenal y pituitaria, y cambios del sistema inmunológico<sup>61</sup>. La activación del eje HHA debe permitir la resistencia a la situación adversa, o bien desencadenar la puesta en marcha de mecanismos adaptativos específicos; por ejemplo, las respuestas termogénicas de la grasa parda frente al frío en roedores.

Cuando esto no ocurre, la permanencia de las respuestas endocrinas mencionadas conducen al organismo a una tercera etapa o **FASE DE AGOTAMIENTO**, en la que los efectos nocivos sobre diferentes sistemas sobreviniendo trastornos como hipercortisolismo, hipertensión y deterioro psicológico<sup>61</sup>, así como el agotamiento de las reservas energéticas y la inhibición de los mecanismos que permiten hacer frente a enfermedades e infecciones, compromiso inmunológico, que terminan por conducir a la muerte del animal (Selye, 1971, 1978; Levi, 1973).

La fase de agotamiento puede resultar inexplicable pero tiene un sentido biológico que trasciende al individuo. El objetivo de este proceso está dirigido a la supervivencia de la especie a costa de la supervivencia individual en situaciones extremas por su intensidad, duración o extensión.

Por otra parte, la reducción de la densidad de población (Edward-Wynne, 1964) como consecuencia de la disminución de las respuestas reproductoras individuales y del aumento de la mortalidad, proporciona una mejora de las condiciones

limitantes (disponibilidad de alimento o refugio, desgaste social, etc.). De esta forma se garantiza la supervivencia de un número reducido de individuos mejor dotados que perpetúen la especie. Finalmente, en condiciones altamente extremas, podría llegarse por estos mecanismos a la desaparición de la especie <sup>58</sup>.

Hemos desarrollado hasta ahora la noción clásica sobre el concepto de estrés y el SGA. Sin embargo, actualmente, y sin contradecir lo expuesto, la evolución de ambos conceptos se centra fundamentalmente en la idea de que la respuesta fisiológica al estrés no resulta tan inespecífica y general como Selye propuso. Y así, por ejemplo, respecto a la hipertrofia adrenal, existen referencias a favor de que determinadas situaciones estresantes, tales como el choque eléctrico o el hacinamiento, provocan en ratas macho un mayor desarrollo de la glándula adrenal (Gamallo y cols., 1986; Restrepo y Armario, 1987; Alano, 1991) pero también son numerosos los trabajos que no describen este aumento 'tráfico tras la exposición continuada a otros agentes que provocan un similar aumento de la secreción de corticosterona que los citados (Armario y cols., 1984; Morméde y cols 1984). Por lo tanto, el hecho de que la estimulación adrenal provocada por el estrés desemboque o no en alteraciones tróficas permanentes del tejido adrenal, dependerá del grado de intensidad y duración del agente utilizado, pero también de otros factores que ahora se no se escapan, y que vendrían a incidir en el modelo específico de agente utilizado.

Conforme se obtienen nuevos resultados, aumenta la controversia en lo que se ha venido aceptando como norma general de respuesta endocrina al estrés. Esto conjuntamente con el hecho, cada vez más frecuente, de que distintos agentes estresantes pueden producir alteraciones cualitativamente diferentes de una misma variable, nos hace pensar que probablemente el estrés no produce una respuesta endocrina tan general como se pretende.

De hecho, se han encontrado posibles relaciones entre la naturaleza del agente estresante y las respuestas que éste desencadena (Corson y Corson, 1983; Goldstein, 1987). La acción de ambas catecolaminas no puede limitarse a una simple prolongación de los efectos del estímulo simpático, y las diferencias en sus propiedades han de tener algún significado fisiológico. Así, situaciones como el miedo, dolor, ansiedad y aquellas que implican actividad mental, aumentan principalmente los niveles de adrenalina, mientras que la conducta agresiva o las situaciones relacionadas con el ejercicio físico incrementan principalmente los niveles de noradrenalina. Nuestro grupo de trabajo (Gamallo y cols., 1990) encontró ligeras alteraciones de diferentes catecolaminas según el modelo de estrés crónico aplicado a ratas macho. Noradrenalina y dopamina aumentaban con la exposición al miedo y la dopamina lo hacía en respuesta al choque eléctrico, mientras que la adrenalina no estaba alterada en ningún caso.

Se cuestiona, por lo tanto, la inespecificidad de las reacciones producidas por diversos agentes nocivos, tal y como propuso Selye, de igual forma que se pone en evidencia, que además de la naturaleza, intensidad y duración del agente estresante, existen toda una serie de factores que pueden influir sobre las reacciones fisiológicas del individuo, incluso con mayor intensidad que el propio estímulo (Conan y Canon, 1983). Se describe así la existencia de un componente psicológico del estrés, de entre cuyos factores se pueden destacar la actitud y el estado emocional del individuo, la predecibilidad y la capacidad de escapar a la acción del agente (Laudenslager y cols., 1983; Vogel, 1985; Muir y Pfister, 1987).

#### 4.3.3. ACTIVACIÓN DEL EJE HHA POR EL ESTRÉS

Una vez detectado el agente estresante por el sistema sensorial o por los interoceptores del sistema nervioso va a ser integrado a nivel central. El resultado de esta integración desencadenará, en un primer momento, la respuesta nerviosa simpática y meduloadrenérgica, pero es a nivel hipotalámico donde, lugar el proceso final de la integración que se encarga de la activación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal, mediador de la fase de **RESISTENCIA o ADAPTACIÓN**, que en las situaciones de exposición a estrés crónico, como en el caso de este trabajo, es la que centra nuestro interés.

Son muchas las moléculas neurotransmisoras y hormonas que se liberan durante el estrés; la gran mayoría tienen receptores y actividad en las células inmunológicas. Las principales son: glucocorticoides, ACTH, adrenalina (secretada por la glándula adrenal), noradrenalina (secretada en terminaciones nerviosas simpáticas), CRH, histamina, prostanglandina E<sub>2</sub>, β-endorfinas y otras <sup>60</sup>.

Los mecanismos neuroendocrinos derivados de la integración del agente estresante tienen lugar en el núcleo paraventricular del hipotálamo, cuyas neuronas reciben el nombre de neuronas parvocelulares y proyectan sus axones hacia la capa externa de la Eminencia Media. Estas neuronas sintetizan una neurohormona, la CRH u hormona liberadora de corticotropina, que es almacenada en el terminal axónico y liberada por él a los vasos del sistema portal hipotalámico-hipofisario a nivel de la propia Eminencia Media. La acción como neurohormona de la CRH se ha comprobado porque la sección de los vasos del sistema portal hipotalámico-hipofisario conduce a una hipofunción de la hipófisis anterior (Carpenter, 1985).

El núcleo paraventricular es un núcleo de integración que recibe aferencias procedentes de distintos núcleos encefálicos entre los cuales se hallan núcleos de relevo de las vías sensoriales, aferencias viscerales, del sistema límbico (que integra información afectiva y emocional), del órgano subfornical, del núcleo preóptico así como de importantes zonas hipotalámicas vecinas. Estas aferencias modifican la actividad nerviosa de las neuronas productoras de CRH a través de diferentes neurotransmisores como acetilcolina, serotonina, catecolaminas y GABA (Barbanel y cols., 1987). Los tres primeros frente al último ejercen una acción estimuladora de la secreción de CRH. Este control nervioso representa el mecanismo de integración del estímulo estresante con la posterior respuesta nerviosa u hormonal.

La secreción y síntesis de CRH por las neuronas parvocelulares está bajo doble control. Por un lado, las aferencias nerviosas a las que nos hemos referido, y que suponen el mecanismo de integración del estrés frente al resto de información sensorial y nerviosa. Por otra parte, los propios niveles circulantes de glucocorticoides actúan sobre las neuronas parvocelulares controlando la secreción de CRH a través de receptores específicos.

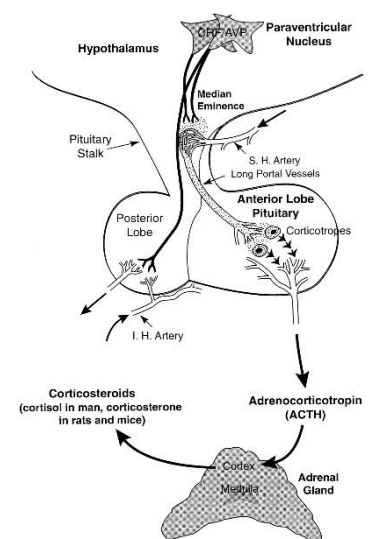
La CRH se ha catalogado como el principal responsable de la liberación de ACTH por la adenohipófisis durante el estrés (Plotsky y Vale, 1984). Sin embargo, muy poco tiempo después de haberse aislado se tuvo claro que no era la única hormona hipotalámica que estimula la secreción de ACTH. Conjuntamente con la liberación de CRH en la Eminencia Media, la neuronas parvocelulares liberan vasopresina, angiotensina, colecistoquinina, neurotensina y encefalinas en pequeñas cantidades, compuestos a los que se les supone una posible acción neuromoduladora. Vasopresina, angiotensina y colecistoquinina actúan sinérgicamente con la CRH potenciando su acción (Tilden y cols., 1985; Rittmaster y cols., 1987; Spinedi y cols., 1988) y parecen tener una importancia fisiológica en la regulación de la secreción de ACTH, caracterizándose así esta regulación por ser multifactorial.

La CRH ejerce sus efectos al unirse con los receptores CRH1 y CRH2. Mientras que la activación de los receptores CRH1 provoca la respuesta de lucha o huida, la activación de los receptores CRH2 se asocia con el cese de la respuesta adaptativa y la recuperación del individuo. El estímulo de los receptores CRH1 favorece la liberación de adrenocorticotrofina (ACTH), que activa la corteza adrenal y estimula la síntesis y liberación de glucocorticoides. El CRH también actúa sobre el locus coeruleus con la consiguiente activación del sistema simpático, que participa en la respuesta aguda al estrés <sup>61</sup>.

La respuesta adaptativa al estrés se encuentra mediada por péptidos denominados urocortinas 2 y 3, que activan a los receptores CRH2. Esta activación se relaciona con la adaptación conductual y las estrategias de afrontamiento. Aparentemente, los receptores CRH1 son ansiogénicos, en tanto que los CRH2 tienen efecto ansiolítico. La arginina vasopresina (AVP) también participa en la respuesta al estrés, dado que potencia el efecto del CRH y, en consecuencia, la liberación de ACTH. En situaciones de estrés crónico se observa desensibilización de los receptores CRH1; no obstante, la actividad de los receptores de AVP perdura y facilita la liberación sostenida de ACTH y la activación de la corteza adrenal. Asimismo, las neuronas que liberan CRH son estimuladas y moduladas por neurotransmisores y neuromoduladores diferentes del CRH, entre los que se encuentra la serotonina, la noradrenalina y el neuropéptido Y.

La activación de las vías del CRH difiere según la naturaleza del estímulo estresante: mientras que los estímulos nocivos activan vías monosinápticas, los estímulos estresantes de naturaleza psicológica activan neuronas ubicadas en el sistema límbico relacionadas con el funcionamiento cognitivo y emocional. De este modo se procesan los aspectos emocionales del estrés (IV).

El segundo nivel de activación del eje HHA ocurre en la adenohipófisis donde se produce la estimulación de la liberación al sistema portal hipofisario de la ACTH, u hormona adrenocorticotropa, péptido de 39 aminoácidos sintetizado a partir de una proteína de mayor tamaño: la proopiomelanocortina (Guillemin y cols., 1977). A nivel hipofisario y durante las situaciones de estrés tiene lugar, además, un efecto paralelo a la elevación de la producción de ACTH que consiste en el aumento de la liberación de péptidos opioides. Esta liberación se produce junto a la de ACTH, dado que ambos derivan del mismo precursor. Estos péptidos son las beta-endorfinas con un potente efecto analgésico (Howlett y Rcs, 1986) y las alfa y gamma-endorfinas, cuyos efectos en situaciones de estrés no han sido aún determinados con claridad. Sin embargo, la activación de este sistema no está incluido directamente dentro del propio eje HHA, siendo por lo tanto un mecanismo colateral.



La ACTH alcanza rápidamente la corteza adrenal vía sanguínea y su acción dependerá de la unión a un receptor de membrana específico (Minino y cols., 1989; Sáez y cols., 1989) presente en las células que forman la zona fasciculada de la corteza adrenal.

Una evidencia importante a favor del efecto trófico de la ACTH sobre la corteza adrenal es que la hipofisectomía produce, entre otros efectos, una atrofia de las glándulas adrenales, reduciéndose considerablemente la zona fasciculada responsable de la secreción de los glucocorticoides (Jara-Albarrán, 1988; Fernández-Tresguerres, 1989).

La producción adenohipofisaria de ACTH es también controlada por una retroalimentación negativa ejercida por los niveles circulantes de glucocorticoides.

El último nivel de la activación del eje HHA consiste en estimular la producción de glucocorticoides por la corteza adrenal. El efecto de la ACTH sobre esta producción afecta fundamentalmente a la síntesis de estas hormonas, ya que la liberación es continua y no se produce almacenamiento de las mismas en la corteza de la glándula. La formación del complejo ACTH-receptor, en las células fasciculadas de la corteza, activa una cascada enzimática dependiente de AMPc, como segundo mensajero (Baxúr y Tyrrell, 1987), teniendo lugar respuestas celulares a dos niveles: se favorece la disponibilidad de colesterol, principal precursor de estas hormonas, y se estimulan las propias rutas de síntesis a través bien de la activación de las enzimas claves, o aumentando la concentración de cofactores (fundamentalmente NADPH). El efecto de la ACTH sobre la disponibilidad de colesterol afecta tanto al colesterol circulante como al almacenado en las propias células corticoadrenales (Brown y Goldstein, 1976; Rainey y cols., 1986). La importancia de los glucocorticoides frente a situaciones estresantes, se evidencia en animales adrenalectomizados, los cuales tienen muy disminuida la capacidad de tolerar agentes estresantes de forma crónica (Reller y cols., 1983). Esta incapacidad para resistir estímulos perjudiciales puede subsanarse mediante la administración exógena de glucocorticoides.

La actividad de este sistema de regulación en cascada, conocido como eje hipotálamo-hipofiso-adrenal, se autocontrola por un mecanismo de retroalimentación negativa cuando los niveles de glucocorticoides en sangre son elevados. Nos referimos, por supuesto, a los ya mencionados efectos inhibidores sobre la secreción hipotalámica de CRH y sobre la secreción hipofisaria de ACTH. El principal lugar de actuación es a nivel central puesto que el hipotálamo es más sensible que la hipófisis a las variaciones plasmáticas de glucocorticoides. Se trata de una inhibición progresiva y proporcional a la dosis y duración del exceso de glucocorticoides (Keller-Wood y Dallman, 1984; Won y cols., 1986; Keller-Wood, 1989). Esta acción inhibidora también es provocada cuando esos niveles elevados se mantienen mediante la administración exógena de distintos análogos sintéticos, aunque en este caso la inhibición alcance, incluso, a reducir la producción endógena de estas hormonas en la adrenal. Este tema será abordado más a fondo cuando hablemos de los efectos de la dexametasona.

Pese a todo lo comentado, es difícil discernir con exactitud a qué nivel ocurre la autorregulación del eje HHA, ya que se imbrican no sólo las ya descritas acciones directas de los glucocorticoides sobre el hipotálamo y sobre la hipófisis, sino que, además, a nivel hipofisario, se produce una desensibilización a la CRH, acción mediada por una reducción de la población de receptores para esta hormona (Hauger y cols., 1987) y, en consecuencia, se inhibe la liberación de ACTH estimulada por CRH. Incluso se ha postulado la acción directa sobre las células adrenales dada la existencia en ellas de receptores para glucocorticoides (Darbeida y Durand, 1987). Asimismo podrían estar implicadas neuronas procedentes del hipocampo y sistema límbico, donde también se han detectado la existencia de receptores para glucocorticoides (Sapolsky y cols., 1984; Saric y cols., 1986; Van Eekelen y cols., 1988).

Aunque sería de esperar que la acción inhibidora de los glucocorticoides sobre el eje HHA limitara su respuesta frente a una situación estresante prolongada, esto no sucede.

En efecto, esto es así, pero hemos de tener en cuenta que no hay ningún mecanismo de regulación mediado por el aumento de los niveles de glucocorticoides que incida sobre el estímulo (agente estresante) suprimiéndolo, y es esa permanencia lo que hace posible una activación persistente del eje aun cuando el sistema de retroalimentación negativo es efectivo. Sólo cuando el "motor" de esa activación desaparezca el eje HHA recuperará su estado basal.

La secreción de todas las hormonas del eje no es constante sino que presenta un ritmo circadiano relacionado con los períodos de sueño-vigilia. En el caso específico de la secreción de glucocorticoides, el mecanismo sincronizador del reloj interno de este ritmo no es dependiente exclusivamente de los ritmos circadianos de CRH y ACTH, sino que tiene un componente neurógeno mediado por la médula espinal a nivel 1-7.

Sin embargo, durante el estrés se produce una rápida activación de todo el eje, independientemente de los valores plasmáticos previos de glucocorticoides y del momento del día en que se produzca.

Como puede entenderse de lo que acabamos de describir, la consecuencia final de la activación del eje HHA por el estrés consiste en aumentar los niveles circulantes de glucocorticoides. En la exposición crónica a un agente estresante, esta activación del eje HHA, no sólo dará una respuesta puntual o aguda, sino que se tenderá a un mantenimiento crónico de estos niveles elevados.

#### 4.3.4. EFECTOS FISIOLÓGICOS.

Al considerar el SGA descrito por Selye, ya se apuntaba que la finalidad de la activación del eje HHA, consistía en permitir la “resistencia o adaptación” a la situación representada por el agente estresante. En relación a esto, el papel que desempeña el aumento de la producción de glucocorticoides por la adrenal es consecuencia, fundamentalmente, de las acciones de estas hormonas sobre el metabolismo intermediario.

En estas condiciones, los glucocorticoides, como comentaremos a continuación, potencian y extienden la duración de la hiperglucemia producida por el glucagón, la adrenalina y la hormona de crecimiento (GH), mientras que acentúa la movilización proteica evitando la caída de los niveles plasmáticos de glucosa, y permitiendo el suministro de este metabolito al sistema nervioso y a la musculatura hasta que el organismo se adapte a la situación estresante <sup>58</sup>.

Los glucocorticoides son pues hormonas hiperglucemiantes y, por lo tanto, diabetogénicas. Sus acciones anabólicas se ejercen fundamentalmente a nivel hepático, estimulando los procesos de gluconeogénesis y glucogenogénesis, favoreciendo la captación de aminoácidos y de ácidos grasos, así como la síntesis proteica (activación enzimática).

A nivel periférico van a tener una acción totalmente contraria, promoviendo el catabolismo proteico o lipídico, e induciendo regresión celular (Kelly y cols., 1986)..

A diferencia del músculo esquelético, el músculo cardíaco no muestra regresión frente al exceso de glucocorticoides. El trabajo anteriormente mencionado (Kelly y cols., 1986) incluye también en su estudio al músculo cardíaco, detectando un incremento de su contenido de ARN y proteínas inducido por los glucocorticoides administrados. Por otra parte, la ausencia de estos puede conducir a un empeoramiento de la función miocárdica. Todos estos resultados nos conducen a pensar en una implicación de los glucocorticoides como potenciales reguladores del turnover de las proteínas cardíacas (Gagnon y cols., 1987).

En los tejidos periféricos los glucocorticoides inhiben, además, la captación de glucosa por las células, por lo que contribuyen a aumentar la glucemia. No obstante, el corazón y el encéfalo no son afectados por esta acción y la glucosa en exceso puede ser utilizada por estos órganos vitales.

Los glucocorticoides no sólo ejercen una acción lipolítica sino que, además, favorecen las acciones de la adrenalina y la hormona de crecimiento. El único tejido graso que se ve excluido de esta acción es la grasa parda en los roedores.

Los glucocorticoides actúan sobre el esqueleto, sobretodo su acción sobre el metabolismo del calcio. Otras acciones específicas de los glucocorticoides van a realizarse durante las fases embrionarias, regulando los procesos de diferenciación celular y el desarrollo de distintos órganos, siendo esta acción reguladora diferente según la fase temporal en la que se encuentre la maduración del organismo. Son responsables, así, de la síntesis y liberación del surfactante pulmonar fetal y de los procesos de maduración pulmonar (Navarro y cols., 1989).

Esta acción inhibidora tónica sobre ciertos procesos relacionados con el crecimiento también la ejercen durante el desarrollo y la maduración posnatal del cerebro como ha sido constatado en ratas por Meyer (1987). Por otra parte, aparecen implicados en la diferenciación embrionaria del tejido cromafin (Ebrlich y cols., 1989) y poseen un importante papel sobre la formación de las microvellosidades intestinales, así como otros muchos efectos que pueden ser consultados en Herrera (1988).

Sobre el sistema cardiovascular, una de las acciones conocida de los glucocorticoides es la que ejercen sobre el mantenimiento de los niveles de presión arterial, de forma que la exposición a situaciones estresantes así como la administración de glucocorticoides o ACTH genera hipertensión (Alano y cols., 1987; Gamallo y cols., 1988). Un estudio reciente reportó una correlación positiva entre los niveles de cortisol medidos antes de la angiografía coronaria y severidad de la enfermedad, pero otros no han demostrado tal una relación. Esto puede ser debido a diferentes condiciones de muestreo, que refleja los niveles de cortisol basal, frente a la capacidad de respuesta del HPA eje de la actividad, que puede tener diversas influencias sobre la patogénesis de la aterosclerosis <sup>62</sup>.

Otros efectos sobre el sistema circulatorio son ejercidos a nivel de la propia sangre. Además de los problemas de coagulación, consecuencia de la alteración en los niveles de sustancias como los tromboxanos, otros efectos se producen



sobre las células sanguíneas. Los glucocorticoides ejercen una acción reguladora de la densidad de población de los eritrocitos favoreciendo por un lado la eritropoyesis y por otro los mecanismos fagocíticos que retiran de la circulación los eritrocitos envejecidos.

A nivel gástrico, los glucocorticoides promueven la secreción de ácido clorhídrico, aumentan el flujo de sangre en la mucosa pero disminuyen la proliferación del epitelio gástrico. Cuando la dosis administrada es sobre fisiológica aumenta la incidencia de úlcera péptica (Wallace, 1987). La estimulación neurógena incluida en las respuestas al estrés reduce además la motilidad gástrica e intestinal (Williams y cols., 1987).

Más datos acerca de los efectos fisiológicos de los glucocorticoides se pueden encontrar en Jara-Albarrán (1988), Bartolomé (1989) y López-Calderón (1992). En el caso de los sistemas nervioso e inmune, las alteraciones son en realidad parte de las acciones ejercidas por los glucocorticoides, mediadas a través de la presencia de receptores para estas hormonas en neuronas a nivel central o en las células inmunitarias. Por otra parte, la actividad nerviosa global resulta también alterada por los propios mecanismos integradores del estrés que se producen, con anterioridad a la llegada de información al hipotálamo, en diversos centros nerviosos de acuerdo con la naturaleza del estímulo y que, además de alertar al sistema neuroendocrino, elaboran sus propias respuestas independientes. Ello conduce a variadas alteraciones de índole neurovegetativo o afectivo-emocional. Efectivamente, el patrón de regulación neuroendocrina hipotálamo-adenohipofisis desarrolla un conjunto de ejes paralelos que acaban, cada uno, en diferentes glándulas periféricas (adrenales, tiroides, gónadas), así como controlan la producción de una serie de hormonas adenohipofisarias de acción propia y directa sobre los tejidos: hormona de crecimiento (GH), prolactina (PRL). El equilibrio de este sistema funcional conjunto es muy fino y la alteración de un eje secretor concreto lo rompe desajustando necesariamente los restantes. Así cuando se activa el eje HHA, la actividad de la adenohipofisis se dirige principalmente a la producción de ACTH, alterándose la síntesis de las demás hormonas tróficas y provocando una reducción funcional de los ejes tiroideo (HHT) y gonadal (HHG). (I). Además, varios autores han observado que la activación permanente del eje HHA provoca un desajuste en los mecanismos de modulación de la secreción en la adenohipofisis, de forma que ésta no responde ni a los ritmos circadianos ni a la retroalimentación negativa por glucocorticoides (Przekop y cols., 1985; Fernández-Tresguerres, 1989).

#### 4.3.5. ESTRÉS Y SISTEMA INMUNE

El estrés es un potente modulador de la función inmunológica, que en la juventud puede ser compensada por la presencia de una respuesta inmunitaria óptima. En los ancianos, la respuesta inmunitaria es redondeada como resultado de la disminución de varios componentes del sistema inmune (senescencia inmune) y un desplazamiento a un Estado pro-inflamatorio crónico (el llamado efecto de 'inflamm-envejecimiento').

El sistema inmune tiene dos componentes intercomunicados: Inmunidad innata o inespecífica e inmunidad adquirida o específica con dos componentes complementarios: humoral (efectuado por células B secretoras de anticuerpos) y celular (por linfocitos T CD4+ y CD8+). Las células del sistema inespecífico, neutrófilos, macrófagos y células dendríticas (APC) inician y amplifican las respuestas inmunes fagocitando gérmenes y antígenos para presentarlos a los linfocitos T ayudadores (T CD4) del SI específico quién decide qué tipo de inmunidad específica o adquirida actuará, si la humoral o la celular.

**Comunicación inmunológica y modulación por citocinas.** El sistema inmune se comunica y modula por contacto intercelular y por señales solubles llamados citocinas o interleucinas (IL) y quimiocinas.

Durante las respuestas inmunes hay citocinas de fase innata, otras en inmunidad humoral y las que estimulan inmunidad celular. Las citocinas pro-inflamatorias llamadas monoquinas (secretadas por monocitos) son: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, interferones alfa y beta (IFN- $\alpha$  y  $\beta$ ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Las acciones proinflamatorias de ellas son neutralizadas por citocinas antiinflamatorias IL-10, IL-13 y el factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). La expresión de citocinas innatas es inducida según el tipo de germen: los virus inducen IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IL-15 y las bacterias IL-1 y TNF- $\alpha$ . Las respuestas inmunes específicas celular y humoral son coordinadas por las subpoblaciones de linfocitos TH/CD4, los que se dividen en células o clones de tipo TH1 y TH2 según el perfil de citocinas secretadas.

La reacción aguda inflamatoria es componente importante de la reacción de adaptación orgánica o estrés y se ha demostrado que el punto de máxima intensidad de una respuesta inmune coincide con el máximo nivel de ACTH y cortisol; entonces se postula que los corticoides son necesarios para proteger el organismo del exceso de respuesta inmune que puede lesionar al individuo. El estrés activa tanto el eje HPA como el sistema nervioso simpático; en consecuencia, se observa un efecto sobre el sistema inmunitario. Los linfocitos poseen adrenoceptores a los que se unen las catecolaminas liberadas durante el estrés. Además, los glucocorticoides disminuyen la función linfocitaria al interactuar con receptores de membrana. De todos modos, los efectos sobre el sistema inmunitario dependen de la naturaleza del estímulo estresante.



Existe una relación entre el sistema endocrino y el sistema inmunitario, tanto estructural como funcional. El timo y la médula ósea reciben innervación noradrenérgica y colinérgica que influye directamente sobre el desarrollo de las células inmunitarias. Además, los linfocitos y monocitos contienen receptores adrenérgicos y para otras aminas y péptidos. Por otro lado, el sistema inmunitario puede modular la función endocrina y de los sistemas de neurotransmisión. Esta conexión resulta en cambios del funcionamiento inmune en respuesta a los estímulos estresantes y a la depresión mayor, que pueden verse reflejados en el aumento de las citoquinas proinflamatorias y en la disminución de las citoquinas antiinflamatorias.

Además de los cambios funcionales mencionados, el estrés y la depresión pueden provocar modificaciones estructurales en algunos órganos; por ejemplo, disminuye el peso del timo y el bazo y aumenta el de las glándulas adrenales, lo cual se debe al aumento del nivel de cortisol. En pacientes con depresión crónica pueden observarse cambios estructurales cerebrales como agrandamiento ventricular y atrofia del hipocampo <sup>61</sup>.

Hay evidencias del profundo impacto del estrés severo agudo y crónico en la susceptibilidad y evolución de enfermedades agudas y crónicas por inducir desórdenes en la inmunorregulación en las cadenas de citocinas inmunorregulatorias. Las situaciones clínicas asociadas con estrés son muchas en medicina humana y veterinaria: infecciones, trauma, cáncer, alergia y autoinmunidad.

La comunicación bidireccional entre el Sistema Inmunológico y el SNC se inicia en el embrión y continúa toda la vida al demostrarse los efectos neuropsicológicos de las citocinas, la activación inmune y los efectos inmunomodulatorios del sistema neuroendocrino.

El envejecimiento se ha asociado con cambios inmunológicos (adultos) que se asemejan a aquellos observados en estrés crónico siguientes o tratamiento de glucocorticoides (GC). Estos cambios incluyen involución timo, menor número de linfocitos T, reducida inmunidad mediada por células y vacunación pobre respuesta a antígenos nuevos. Los estudios actuales muestran que el envejecimiento es asociado con mayor capacidad de respuesta del compartimiento de células T, deterioro del valor de compartimiento de células B y alteraciones en la arquitectura temporal y correlaciones de parámetros neuroendocrino inmune <sup>65</sup>.

Una revisión de evidencia actual sugiere que el envejecimiento del sistema inmunitario (adultos) puede estar estrechamente relacionada con el estrés crónico y factores de estrés. Envejecimiento saludable se ha asociado con trastornos emocionales en paralelo al aumento de cortisol y la proporción de dehidroepiandrosterona (DHEA). El deterioro en la secreción de DHEA junto con el aumento de cortisol da como resultado una mayor exposición de las células linfoides a las acciones de glucocorticoides perjudiciales. De ello se desprende que funciones neuroendocrinas alteradas podrían ser características de la senescencia. En efecto, los cambios en las respuestas de los sistemas inmunitarios innato y adaptativo durante el envejecimiento se producen del mismo modo durante la exposición crónica de glucocorticoides <sup>66</sup>.

En relación con la edad, el aumento de la proporción de cortisol/dehidroepiandrosterona podría entenderse como un factor determinante de cambios inmunológicos observados durante el envejecimiento <sup>64</sup>. Los ancianos estrictamente sanos están algo más protegidos de la exposición de estrés crónico y muestran los niveles de cortisol normal y un aumento de la función de las células T en la expresión de los CD95 <sup>68</sup>. Esta información agrega una nueva dimensión clave a la biología del envejecimiento y el estrés <sup>67</sup>.

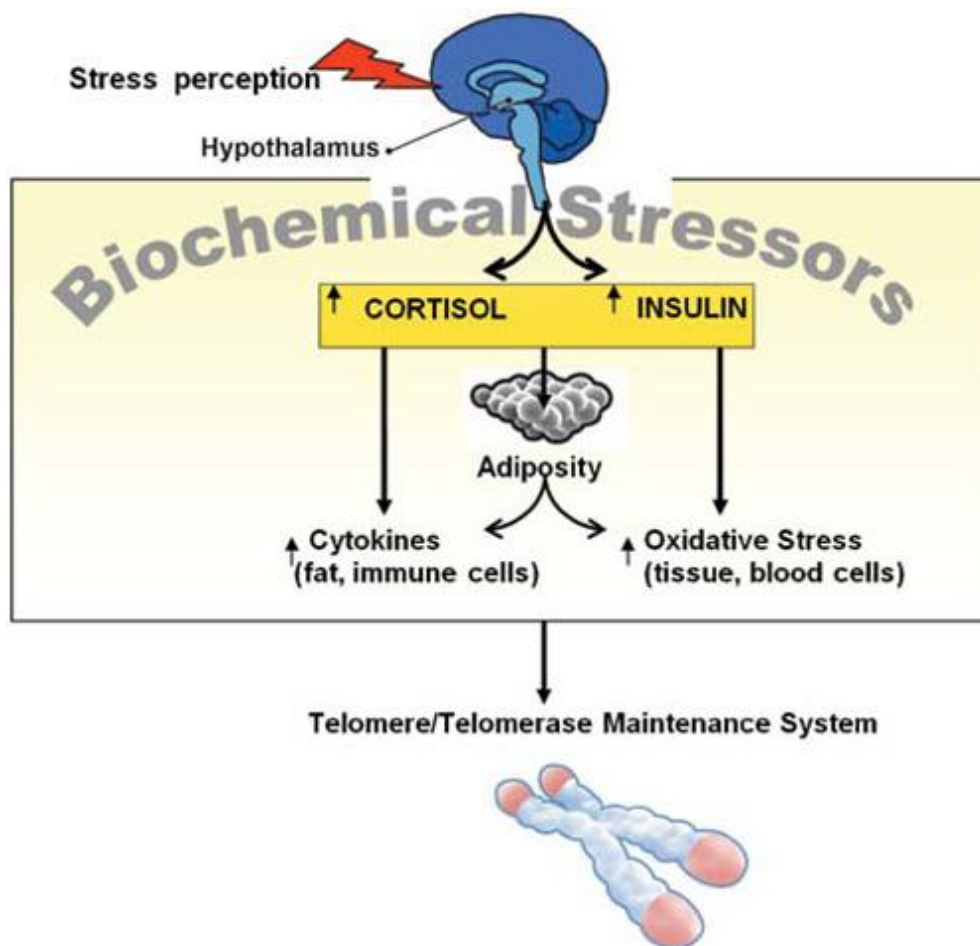
Las características de la senescencia acelerada inducidas por estrés crónico incluyen: mayor estrés oxidativo, reducción de la longitud del telómero, exposición crónica a glucocorticoides, timo involución, cambio en el intercambio celular, reducción a la inmunidad celular, resistencia a los esteroides y la inflamación crónica de baja graduación <sup>66</sup>.

Estudios anteriores habían demostrado ya que, además de los telómeros, las células poseen en su interior una enzima denominada telomerasa, que se encarga de mantener jóvenes a las células, ayudando a mantener la longitud de sus telómeros –se ocupa de restituir su longitud–, así como su capacidad de continuar dividiéndose.

En la revista especializada *Brain, Behavior and Immunity*, los científicos explican más detalladamente que han demostrado que la exposición de las células sanguíneas conocidas como linfocitos T (responsables de coordinar la respuesta inmune mediada por células) a la cortisona, está relacionada con una significativa reducción en la actividad de la telomerasa. Su investigación ha revelado, por tanto, cómo el estrés hace que la gente se vuelva más propicia a contraer enfermedades como consecuencia del acortamiento de los telómeros. Este descubrimiento sugiere la posibilidad de crear un medicamento destinado a la prevención de los daños al sistema inmunológico para las personas que se ven sometidas a situaciones de estrés a largo plazo, como es el caso de los cuidadores de personas con enfermedades crónicas, los soldados o los controladores del tráfico aéreo, entre otras.

#### 4.4. ESTRÉS PSICOLÓGICO CRÓNICO, TELÓMERO Y TELOMERASA: Estudios Clínicos.

Numerosos estudios demuestran los vínculos entre el estrés crónico y los índices de mala salud, y envejecimiento acelerado, incluido el empobrecimiento de la función inmunológica. Se ha investigado la hipótesis de que el estrés afecta la salud por modulación de la tasa de envejecimiento celular. A continuación demostraremos, mediante revisión de algunos estudios como el Estrés Psicológico crónico se encuentra significativamente asociado con mayor estrés oxidativo, disminución de la actividad de la telomerasa y longitud telómero más corta, que se conocen como los factores determinantes de la senescencia celular y la longevidad.



Las mujeres con los niveles más altos de estrés percibido tienen telómeros más cortos, en promedio se calcula que este acortamiento equivale al menos a una década de envejecimiento adicional en comparación con las mujeres de baja tensión psicológica, emocional. Estos resultados tienen implicaciones para comprender cómo, a nivel celular, estrés pueden promover la aparición prematura de enfermedades relacionadas con la edad.

- **estrés psicológico**
  - **longitud de telómero**
    - **telomerasa**
      - **estrés oxidativo**

Personas que han permanecido expuestas a estrés psicológico durante largos periodos de tiempo, han experimentado un envejecimiento prematuro y la anterior aparición de enfermedades del envejecimiento. Numerosos estudios demuestran los vínculos entre el estrés crónico y los índices de mala salud, incluidos los factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y la función inmunológica más pobre<sup>60,70</sup>. Investigaciones recientes apuntan a las funciones cruciales de telómeros y telomerasa en envejecimiento celular, y como el Estrés Psicológico produce un acortamiento acelerado de la

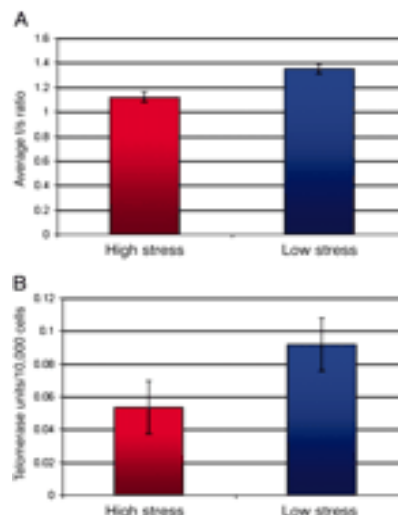
telomerasa, como expone la dra. Elizabeth H. Blackburn, Premio Nobel Medicina 2009, en el estudio **“Accelerated telomere shortening in response to life stress”** de 28 Septiembre de 2004.

#### 4.4.1. ACORTAMIENTO ACELERADO DEL TELÓMERO EN REPUESTAS AL ESTRÉS DE LA VIDA DIARIA <sup>71</sup>.

En este estudio, la dra. Blackburn et al, , demostraron la relación entre estrés psicológico, acortamiento de los telómeros e incremento de estrés oxidativo.

Para estudiar ambos objetivos , examinaron 58 mujeres premenopáusicas sanas que eran madres biológicas de un niño sano ( $n = 19$ , "madres de control") o un niño enfermo crónico ( $n = 39$ , "madres cuidadoras niños enfermos"). Mujeres en ambos grupos completaron un cuestionario estandarizado de 10 elementos para evaluar el nivel de estrés al que estaban sometidas (las madres estaban libres de cualquier enfermedad) A ambos grupos se les midió la longitud de los telómeros y la actividad de la telomerasa en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs)

Tras concluir el estudio, se encontraron correlaciones significativas entre el estrés percibido y todos los marcadores de envejecimiento celular. Se observó, que existía una gran correlación entre la duración de la exposición al estrés ( años que permanecieron cuidando a los niños enfermos), con el grado del acortamiento del telómero, la actividad de la telomerasa y el grado de estrés oxidativo. Además se observó que dentro del grupo de las madres expuestas a estrés, la longitud de los telómeros era mucho menor en aquellas en las que era mayor el estrés al que estaban sometidas. Sorprendentemente, el grupo expuesto al alto estrés también tuvo un nivel significativamente menor de actividad de telomerasa (figura inferior)) y mayor estrés oxidativo que el grupo expuesto a bajo estrés.



Los resultados obtenidos sugieren que senectud prematura inducida por estrés en las personas podría ser influenciado por el estrés crónico psicológico, produciendo envejecimiento celular a través de al menos tres vías: función inmunitaria celular, actividad de la telomerasa y/o estrés oxidativo. El estrés crónico conduce a un acortamiento prematuro de los telómeros, estando está fuertemente asociado con mayores tasas de morbi-mortalidad<sup>72</sup>.

#### 4.4.2. LONGITUD DEL TELOMERO, CELULAS MADRE Y ENVEJECIMIENTO <sup>73</sup>.

De este reciente estudio llevado a cabo por la doctora Blasco, se han obtenido datos importantes de cómo influye el estrés en el envejecimiento. RNA telomérico y estrés: un nuevo nivel de regulación:

El mantenimiento de una longitud mínima de los telómeros es esencial para asegurar la multiplicación y propagación de las células, de modo que los telómeros son básicos en los procesos celulares ligados al cáncer y al envejecimiento. En este trabajo reciente publicado en *Nature Cell Biology*, Blasco y Schoeftner describen que los telómeros son transcritos por la RNA polimerasa II dando lugar a la producción de abundantes RNA (TelRNA) con la secuencia r(UUAGGG)n; estos TelRNA permanecen unidos a la cromatina telomérica sugiriendo un importante papel estructural.

Los TelRNA están finamente regulados por la célula, de modo que procesos como el desarrollo, la diferenciación celular o el estrés, y la estructura de la cromatina afectan a la producción de estos RNA teloméricos. Los autores proponen que los TelRNA podrían constituir una importante respuesta al estrés celular ya que ciertas condiciones ambientales aumentarían

su producción. Estos descubrimientos establecen una nueva conexión entre el estrés y la estructura de los telómeros, ofreciendo una explicación a trabajos anteriores que indicaban que el estrés aceleraba la pérdida de telómeros.

La existencia de los TelRNA ha llevado a otro descubrimiento inesperado: actúan como potentes inhibidores moleculares del enzima telomerasa, encargado de mantener los telómeros en las poblaciones de células madre adultas así como en la mayoría de los tumores. Los descubrimientos de Schoeftner y Blasco parecen indicar que los TelRNA podrían controlar la acción de la telomerasa sobre los telómeros, de manera que a mayor producción de TelRNA habría menor alargamiento de los telómeros. De acuerdo con este modelo, se ha encontrado que la producción de TelRNA está disminuida en distintos tipos de tumores humanos, facilitando la acción de la telomerasa y el crecimiento tumoral. En este mismo sentido, la producción de TelRNA también es menor durante el desarrollo embrionario, permitiendo el mantenimiento de los telómeros por la telomerasa durante esta importante fase del desarrollo del organismo. Por contra, los TelRNA aumentan dramáticamente en el adulto, contribuyendo al acortamiento de los telómeros asociado al proceso de envejecimiento.

#### **4.4.3. LA RECUPERACIÓN DEL DAÑO CELULAR POR EL ESTRÉS AMBIENTAL ESTA RELACIONADO CON LA EDAD Y LA LONGITUD DE LOS TELÓMEROS<sup>74</sup>.**

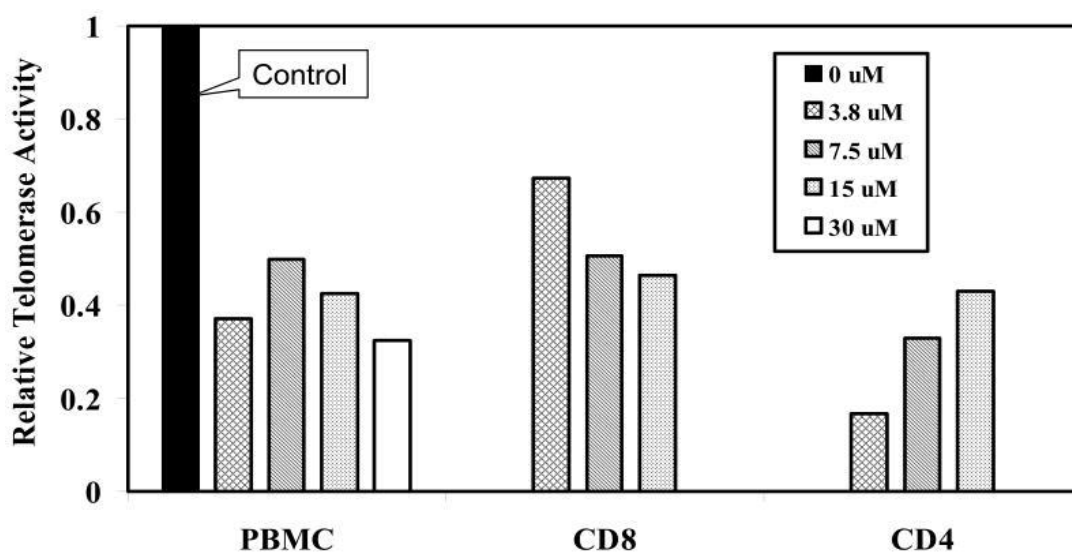
Los efectos del estrés ambiental en el proceso de envejecimiento celular son de gran interés. Cada especie induce el HSR (heat shock response) ante condiciones estresantes y esta respuesta le confiere a un estado de citoprotección que permite que el organismo pueda soportar un estrés posterior, potencialmente letal. Con la edad de los organismos, disminuyen su capacidad para hacer frente a estrés ambiental, al igual que su capacidad para inducir el HSR. En este estudio, se buscaron examinar los efectos de sales de metales pesados (como agente estresante ambiental) en los fibroblastos humanos, relacionándolos con la expresión de HSP (heat shock proteins), entre las que se utilizaron la Hsp90, Hsp70 y p23. Se observó que el tratamiento agudo con cinc o cloruro de estaño induce el HSR de manera dependiente de la dosis y que la edad replicativa de las células determina la magnitud de este HSR. La exposición continuada de las células del cuerpo a niveles excesivos de estas sales probablemente contribuyen a causar enfermedades crónicas, posiblemente relacionada con fenotipos de envejecimiento prematuro.

Curiosamente, cuando se potenciaba la expresión de hTERT, de la telomerasa, se evitaban estos efectos asociados a la edad, siendo capaces de inducir la adecuada respuesta HSR, así como la posterior recuperación, al igual que se produce en poblaciones de células más jóvenes. Se demostró que la expresión de hTERT da como resultado la activación de la enzima telomerasa, que mantiene la longitud telómero en fibroblastos humanos. Este mantenimiento de la integridad genómica parece representar una mayor resistencia al envejecimiento prematuro provocado por la agresión y el estrés inducido por las sales de metales pesados. Deducimos, que la respuesta al estrés funcional, ambiental depende de longitud del telómero, quedando claro que si el "reloj interno del telómero" está apagado mediante la activación de la telomerasa, las células continúan respondiendo adecuadamente al a pesar de la longevidad de la célula, marcando así una edad funcional de la célula, diferente a la edad cronológica de la misma.

#### **4.4.4. REDUCCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA EN LINFOCITOS T EXPUESTOS A CORTISOL<sup>75</sup>.**

El equipo de la dra. Rita B. Effros de la Universidad de California en los Ángeles (UCLA) ha identificado el mecanismo biológico subyacente al desgaste celular que provoca el estrés, constatando así que existe un vínculo entre el cuerpo (a nivel celular) y la mente, concretamente, con los estados emocionales asociados al estrés, entre el estado anímico y el estado físico. Según sus estudios, esta relación depende de la cortisona, la hormona que generamos en situaciones de estrés y que, si su presencia se prolonga durante mucho tiempo en la sangre, desencadena un proceso en el organismo que propicia el envejecimiento celular.

Ahora, los científicos de la UCLA han descubierto que la cortisona -que está considerada la hormona del estrés porque generamos más cortisona cuando estamos estresados- suprime la capacidad celular para activar la telomerasa, produciendo una reducción de la transcripción de la hTERT, tanto en linfocitos CD4 como en CD8, por lo que, indirectamente, propicia que las células tengan telómeros más cortos.



Cortisol inhibits telomerase activity in both T cell subsets

Cells were stimulated with PHA together with DMSO (diluent) or hydrocortisone Immediately prior to cell preparation for the TRAP assay, T cells or subsets thereof were isolated (Milteny magnetic beads). Results are expressed as relative telomerase activity for 10,000 blast cells from each cell population as compared to its corresponding DMSO control, which is arbitrarily set at 1.0. For PBMC (n=8), and for the CD8 & CD4 (n=3).

Su investigación ha revelado, por tanto, cómo el estrés hace que la gente se vuelva más propicia a contraer enfermedades como consecuencia del acortamiento de los telómeros.

Este descubrimiento sugiere la posibilidad de crear un medicamento destinado a la prevención de los daños al sistema inmunológico para las personas que se ven sometidas a situaciones de estrés a largo plazo, como es el caso de los cuidadores de personas con enfermedades crónicas, los soldados o los controladores del tráfico aéreo, entre otras.

Por tanto, existe un mecanismo celular asociado al estrés que afecta a la longitud de los telómeros, lo que señala que estrategias destinadas a incrementar la actividad de la telomerasa en estos linfocitos proporcionarían efectos beneficiosos para el sistema inmunitario, en situaciones de estrés emocional crónico.

Una de las autoras de la investigación, la inmunóloga de la UCLA, Rita Effros, explica en el comunicado de la UCLA que “cuando nuestro organismo se encuentra en una situación de estrés, fomenta la producción de cortisona para provocar una respuesta de lucha o huida”. “Si la concentración de esta hormona se mantiene elevada en nuestro flujo sanguíneo durante largos periodos de tiempo, sin embargo, provoca el desgaste del sistema inmunológico. Ahora estamos probando métodos terapéuticos para aumentar los niveles de telomerasa y ayudar al sistema inmune a evitar los efectos de la cortisona. Si lo conseguimos, algún día quizá exista una píldora que fortalezca la capacidad del sistema inmune para adaptarse al estrés emocional crónico”.

Estudios anteriores ya habían relacionado el estrés de larga duración con el acortamiento de los telómeros. Es el caso de un estudio, publicado el año pasado por The Journal of Immunology y llevado a cabo en la Ohio State University, que demostró que el estrés crónico de cónyuges e hijos encargados de cuidar a enfermos de Alzheimer puede reducir la esperanza de vida de los cuidadores entre cuatro y ocho años.

La causa: el acortamiento de los telómeros que determinan la reproducción celular y, por tanto, la esperanza de vida del organismo. Tres décadas de estudio permitieron a los científicos de la Ohio State University determinar los vínculos entre el estrés psicológico y un estado inmunitario debilitado.

A medida que envejecemos, la actividad de la telomerasa disminuye y, como consecuencia, también la longitud de los telómeros. Es parte del proceso natural del envejecimiento. El estrés crónico, sin embargo, acelera este proceso de envejecimiento de las células del cuerpo. Este hecho ya había sido constatado, de manera radical, en otro estudio anterior, del año 2004, llevado a cabo en el Laboratorio de Neuroendocrinología de la Universidad de California, del que hemos

hablado inicialmente. Gracias a esta investigación se demostró que las células de la sangre de mujeres que habían pasado la mayor parte de sus vidas cuidando de un hijo discapacitado tenían, genéticamente hablando, una década más de edad que las mismas células de aquellas madres que llevaban menos tiempo en la misma difícil tarea.

#### **4.4.5. LA EROSIÓN ACELERADA DE LOS TELÓMEROS ESTA ASOCIADA A UN DECLIVE DE LA FUNCIÓN INMUNE EN CUIDADORES DE ENFERMOS DE ALZHEMER<sup>76</sup>.**

En este estudio se observó que los cuidadores de pacientes de la enfermedad de Alzheimer sufren estrés crónico asociado con una disminución de la función inmunológica. Para evaluar los cambios psicológicos y inmunológicos de los cuidadores, se compararon los síntomas depresivos, composición PBMC (células mononucleares sangre periférica), in vitro inducida por activación de proliferación y citoquinas, la producción y actividad de telomerasa y longitud del telómero de 82 personas (los 41 cuidadores y 41 controles pareados por edad y género). Encontraron que los síntomas depresivos fueron significativamente mayores en los cuidadores que en los controles ( $p < 0,001$ ). Correspondientemente, los cuidadores tenían un descenso en la proliferación células T, pero con aumento de la producción de citoquinas TNF -  $\alpha$  e IL-10, en comparación con el grupo control en respuesta a la estimulación in vitro. Se examinó el impacto de estos cambios en la vida de replicativa celular y se encontró que los cuidadores tenían longitudes de telómero significativamente más cortas en PBMC que los controles (6.2 y 6,4 kb, respectivamente,  $p < 0,05$ ) con acortamiento similar en aislados de las células T, monocitos. Por último, mostraron que la actividad de la telomerasa basal en células PBMC y T fue significativamente mayor en los cuidadores que en los controles ( $p < 0,0001$ ), apuntando a un intento infructuoso de células de compensar la pérdida excesiva de los telómeros en los cuidadores. Estos resultados demostraron que el estrés crónico está asociado con la función alterada de células T y la aceleración del envejecimiento de las células inmunitarias según lo sugerido por el excesivo acortamiento telomérico.

#### **4.4.6. ACORTAMIENTO DEL TELÓMERO Y DESÓRDENES MENTALES: EVIDENCIA PRELIMINAR QUE EL MODELO DE ESTRÉS CRÓNICO ACELERA EL ENVEJECIMIENTO<sup>77</sup>.**

En 2006, Simon N. et al, estudiaron la excesiva morbilidad y mortalidad asociada al Trastorno Bipolar (TBP), y en particular al Trastorno Depresivo Mayor (TDM). La depresión ha sido conceptualizada como una actividad disreguladora y generadora de estrés. En este estudio, se llegó a la evidencia que el estrés celular lleva a un acelerado acortamiento de los telómeros. Al igual que ha sido relacionado a cáncer y ECV. Por lo que propone que los individuos que cuentan con trastornos del afecto crónico, tendrán telómeros más cortos que aquellos individuos que no padecen trastornos psiquiátricos.

Se tomaron muestras de 88 individuos, 15 con TDM puro sin síntomas ansiosos, 15 con TBP y síntomas ansiosos y 14 con TBP sin síntomas ansiosos. Y 44 controles pareados en edad. El Diagnóstico Psiquiátrico fue obtenido mediante la entrevista psiquiátrica estructurada SCID de acuerdo al DSM IV. Se obtuvo el DNA de leucocitos, se les aplicó la prueba estándar cuantitativa de Southern Blot, obteniendo como resultado que la totalidad de trastornos psiquiátricos conducían a un acortamiento de los telómeros.

#### **4.4.7. EROSIÓN TELOMÉRICA RÁPIDA EN ESQUIZOFRENIA.<sup>78</sup>**

En 2008, Kao et al, planteó la hipótesis, de que al igual que en los trastornos afectivos, la dinámica de los telómeros estaría afectada en la esquizofrenia. Llevaron a cabo un estudio realizado en 51 pacientes, 52 individuos sanos no emparentados y 24 familiares sin la enfermedad.

Para el diagnóstico se empleó la entrevista clínica estructurada del DSM-IV. Se estudió el DNA de linfocitos periféricos, y se le aplicó PCR. Concluyeron que los telómeros de los pacientes se acortan más rápidamente que en los individuos control, y que el acortamiento en los familiares era menos intenso que en los enfermos, pero mayor que en los controles sanos.

Ellos estimaron que el acortamiento en los telómeros en los pacientes era equivalente al envejecimiento de 25 años en comparación con sus controles. Sin embargo, las causas de este acortamiento aún son desconocidas, sugieren que pueden estar implicados: el estrés, daño oxidativo y la inestabilidad genómica.

#### **4.4.8. ACORTAMIENTO DE LOS TELÓMEROS EN PACIENTES CON ESQUIZOFRENIA CRÓNICA, QUE MUESTRAN POBRE RESPUESTA AL TRATAMIENTO<sup>79</sup>.**

Yang Yu et al, en el 2008, reclutaron a 68 pacientes con esquizofrenia del Hospital Psiquiátrico de Kaohsiung, Taiwán. Para el diagnóstico se empleó la entrevista clínica estructurada del DSM IV, siendo aplicada por Psiquiatras. No presentaban enfermedades crónicas en eje III y no presentaban dependencias a sustancias. Se escogieron pacientes entre 19 y 59 años, se evaluó su estadio clínico mediante BPRS y GAF. Fueron separados en 2 grupos dependiendo de su puntuación obtenida.



-Buenos respondedores = 34, GAF > 40.

-Pobres respondedores = 34, GAF < 40.

Los controles no contaban con antecedentes de trastornos psiquiátricos, no tomaban ningún medicamento y no tenían ningún familiar de primer grado con Esquizofrenia. Tras medirse las longitudes de los telómeros en ambos grupos, se observó que fueron significativamente diferentes. Los pobre respondedores tenían la longitud más corta. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los buenos respondedores y los controles.

Concluyeron que la longitud de los telómeros es significativamente menor en los pacientes con pobre respuesta. Siendo 1.5 Kb menor que en los controles. La reducción en la capacidad antioxidante y el incremento de radicales libres de O<sub>2</sub>, podría causar estrés oxidativo en la esquizofrenia. Por lo que sugiere que los pacientes con pobre repuesta pueden estar sometidos a un mayor estrés oxidativo, produciendo acortamiento precoz en sus telómeros.

#### **4.4.9. LONGITUD DEL TELÓMERO Y PRESIÓN DE PULSO EN PACIENTES CON PSICOSIS NO AFECTIVA DE RECIENTE DIAGNÓSTICO, SIN TRATAMIENTO PREVIO<sup>80</sup>.**

En este estudio se buscaba demostrar, que comparado con sujetos controles sanos, los pacientes de reciente diagnóstico, vírgenes a tratamiento, con psicosis no afectiva, presentan un acortamiento en los telómeros así como incremento en su presión de pulso.

##### **Método**

Los pacientes fueron reclutados en el primer contacto con los servicios psiquiátricos en el Hospital Clínico de Barcelona (Esquerra Eixample, de clase media y media alta). Los sujetos sanos fueron reclutados mediante anuncios. Fueron elegidos con variables demográficas, IMC y patrones de tabaquismo similares. Se les aplicó la versión en español de la entrevista clínica estructurada para el DSM IV.

GP = 41 pacientes con psicosis no afectiva (27 con esquizofrenia, 9 con trastorno esquizofreniforme, 2 con trastorno psicóticos breve, 2 con trastorno alucinatorio, 1 con psicosis no especificada)

GC= 41 sujetos control.

Además se aplicó el Dartmouth Assessment of lifestyle Inventory: que califica abuso de sustancias. El índice de posición social se midió con la escala Hollingshead Redlich.

##### **Criterios**

Los criterios fueron:

1. Edad entre 18 y 64 años.
2. Sin historia de DM u otras enfermedades asociadas a la intolerancia a la glucosa (Enf. de Cushing)
3. No tomar medicamentos asociados a la resistencia a la insulina (clortalidona, hidroclorotiazida, furosemida, beta bloqueadores, glucocorticoides, ciclosporina, narcóticos).
4. Sin consumo de cocaína en los 30 días previos al estudio.
5. Sin diagnóstico previo de esquizofrenia, TDM, T. adaptativo.
6. Sin tratamiento previo con antipsicóticos o antidepresivos.

Los pacientes en el grupo de psicosis tenían una exposición máxima a antipsicóticos de 1 semana y no habían utilizado ningún antipsicótico en los 30 días previos al estudio.

##### **Variantes Metabólicas**

Se aplicó a todos los sujetos una Prueba de tolerancia a glucosa, 2 hr. posterior a la ingesta VO de 75 g.

Los niveles de insulina rápida, hemoglobina glucosilada (Hb1Ac) y cortisol también fueron medidos.

El ritmo cardiaco y la T/A fueron medidos en ambos antebrazos.

La talla y peso fue tomada.

Los niveles de insulina en suero fueron medidos por duplicado mediante el ensayo inmunoradiométrico monoclonal.

La Hb1Ac fue determinada mediante cromatografía.

El cortisol mediante radioinmunoanálisis.

$IMC = \text{peso} / (\text{talla})^2$

$PP = T / AS - T / AD$

El modelo homeostático del estado estable de la función de las células beta (HOMA %B) y sensibilidad a insulina (HOMA%S) fueron calculados como porcentajes de la referencia de una población de sujetos no diabéticos empleando el calculador HOMA v2.2.

#### **Contenido de Telómero**

TC, fue determinado con una medida fluorométrica. Un % de la media de la señal quimiolumincente de 6 determinaciones de la muestra del DNA de cada paciente y sujeto control que se compara con una señal standard. Se toma de 10 a 15 ng del DNA de leucocitos, luego es desnaturalizado a 56 grados centígrados en 0.5 M NaOH/1.5 M NaCl. Un oligonucleótido específico (5'-TTAGGG-3') de telómero se etiqueta mediante fluoresceína, y se hibrida al DNA genómico. Luego es hecho pasar a través de rayos UV y membranas Tropilon Plus, desechando los oligonucleótidos no hibridizados. Los oligonucleótidos hibridizados fueron detectados usando anticuerpos antifluoresceína. Luego son expuestos a un hiperfilm por 2 minutos y la intensidad de cada telómero es digitalizada mediante un escaneo utilizando el software 4.0 Nucleotech Gel Expert.

#### **Análisis estadístico**

- Los grupos fueron comparados utilizando  $\chi^2$ .
- La significancia fue definida como una  $P < 0.05$ ,
- Se utilizó la versión 12.0 del paquete estadístico de ciencias sociales de Windows.

#### **Resultados**

No encontraron diferencias entre hombres y mujeres en cuanto a la longitud de los telómeros.  $P = .854$ .

No se encontró diferencia significativa entre los dos grupos en relación a los niveles de cortisol en plasma.

HOMA %S Y HOMA%B, sin diferencias.  $P = .40$

#### **Limitaciones.**

Los hábitos de salud y alimenticios no fueron formalmente medidos.

No otorga información adicional de los mecanismos fisiopatológicos que subyacen la comorbilidad de estas tres anormalidades.

No es posible indicar una direccionalidad de eventos.

La edad no fue tomada como una co-variable.

No se especifica si el diagnóstico se hizo de forma retrospectiva

#### **Fortalezas**

Se trata del primer estudio que examina la coexistencia de estos factores en una población de pacientes psicóticos y el acortamiento de telómeros.

Los autores sugieren tanto a la longitud de los telómeros como a la presión de pulso como marcadores biológicos implicados en la coexistencia de problemas metabólicos en pacientes psicóticos.

Al ser vírgenes al tratamiento, no son atribuibles los resultados al uso de antipsicóticos.

#### **Conclusiones del estudio.**

La principal causa de mortalidad prematura en pacientes con esquizofrenia es la enfermedad cardiovascular (ECV).

Tanto el acortamiento de los telómeros como el incremento en la presión de pulso y una tolerancia a la glucosa anormal han sido asociadas a un incremento del riesgo de padecer ECV.

Existe evidencia de que los procesos oxidativos se encuentran incrementados en la esquizofrenia, lo que podría explicar la fisiopatología del acortamiento de los telómeros en los pacientes con psicosis.

Probables vías de Asociación

↑ Presión de Pulso

↑ stress oxidativo

## 5. DISCUSIÓN

Nuestra investigación en los estudios clínicos anteriormente expuestos, que abarcó tanto la asociación del acortamiento de los telómeros con el envejecimiento acelerado, todos los artículos señalan lo que Elizaberth Blackburn había apuntado en su trabajo original, de el año 2004, acerca de la conexión entre el envejecimiento prematuro y el estrés crónico psicológico. Ella apuntó que los mecanismos que impactan a nivel celular son desconocidos, pero abría la posibilidad a probables vías que explicaran por qué los individuos ambientalmente estresados tienen una mayor estrés oxidativo, disminución en la actividad de la telomerasa, y una disfunción inmune celular, mediada por linfocitos T.

Si bien es cierto que el estrés psicológico conlleva a cambios del estado de ánimo, es bien conocido que los trastornos tales como ansiedad, depresión, están ligados a un acelerado envejecimiento, así como estos individuos presentan un incremento en la morbilidad, con la aparición de enfermedades cardiovasculares, psiquiátricas, e inmunológicas. Lo importante de este estudio ( Blackburn et al) es que por primera vez, un investigador logra relacionar científicamente, en grupos de personas estresadas vs controles, con variables similares controladas, que el estrés percibido crónico conducía a un envejecimiento prematuro, similar o equivalente a una década de vida. Esto es que, bajo mediciones de telómeros, comprobó que había un acortamiento significativo en el grupo expuesto a estrés, y mayor cuanto mayor fue la duración de la situación estresante a la que fueron sometidos. Sin embargo, en el análisis de cómo únicamente el estrés crónico pudiese explicar el envejecimiento prematuro y acortamiento de los telómeros, no fue suficiente y sugirió que éste pudiera llevar al envejecimiento celular prematuro a través de tres caminos, no mutuamente exclusivos: trastorno de la función inmune, estrés oxidativo y actividad de la telomerasa. El estrés crónico puede potencialmente conducir, por medio de una activación crónica de las respuestas autonómicas y neuroendocrinas, a un estrés oxidativo, conllevando a la senescencia celular. Otros autores, tales como Epel ES. , de la universidad de California, establecen en el 2009 cuál sería la explicación a este fenómeno. Señala que el estrés crónico puede conducir a un aumento de la ingesta calórica, con un incremento de cortisol e insulina, junto con una supresión de ciertas hormonas anabólicas. Este estado de estrés metabólico, a su vez promueve una adiposidad abdominal. Ambos, la respuesta directa al estrés y la acumulación de grasa visceral, promueven un aumento de la inflamación sistémica y estrés oxidativo. Este ambiente bioquímico parece ser el que altera o conduce los mecanismos de la senectud celular, principalmente disminuyendo la actividad de la telomerasa, y conduciendo al acortamiento de los telómeros y a la senescencia. Además se sugiere que ciertas conductas y temperamentos psicológicos, aquellos de alto riesgo, especialmente los susceptibles a estados de ansiedad, pueden desencadenar la cascada del estrés descrita con anterioridad. Apoyan esta teoría los estudios expuestos anteriormente, en los que se relacionan depresión, trastornos esquizoafectivos, estrés emocional en pacientes y cuidadores de afectos de alzheimer con el desarrollo de estrés crónico y acortamiento de los telómeros.

Contrastando la hipótesis del acortamiento telomérico producido por el estrés crónico, otros autores señalan ( Eli Puterman et al) que el ejercicio puede tener un efecto beneficioso en la alteración del telómero, pues al contrario que el estrés crónico, produce un frenamiento en el acortamiento telomérico, a través del bloqueo de la producción de cortisol.

## 6. CONCLUSIONES

El estrés crónico conduce a deterioro y acortamiento de los telómeros acelerando el deterioro celular a través de diferentes mecanismos tanto conductuales, inmunológicos y metabólicos (estrés oxidativo ) que inciden en el deterioro celular molecular que finaliza con una senescencia prematura.

Existe en casi todos los estudios clínicos una relación directa y proporcional entre el estrés percibido y el grado de acortamiento telomérico así como una menor actividad de la telomerasa.

El acortamiento de los telómeros en las células inmunes está ligado estados de morbilidad y por ende a una susceptibilidad al deterioro celular y al acortamiento de telómeros y senectud prematura.

Los estudios clínicos en trastornos psiquiátricos muestran una clara relación entre el acortamiento telomérico, baja actividad de telomerasa y acelerado deterioro celular con envejecimiento prematuro.

Sin embargo no todos los individuos sometidos a estrés crónico desarrollan un acortamiento de telómeros y senescencia prematura lo que sugiere otros mecanismos estén involucrados tales como el grado de percepción al estrés, la genética, el entorno y los hábitos de vida , así como el estrés oxidativo pudieran contribuir al daño de la dupla telómero-telomerasa en mayor o menor grado.

Nuevos estudios serán necesarios para delimitar con objetividad en que grado el estrés crónico conduce a los cambios en los telómeros y en la actividad de la telomerasa.

Nuevos descubrimientos están por venir en este apasionante campo de la ciencia, mantener la juventud, prolongar la vida, así como encontrar en la telomerasa una nueva arma terapéutica para vencer al cáncer .Es probable que la senescencia celular sean muchos caminos y un solo destino.

## **7. AGRADECIMIENTOS**

A todos los docentes de esta diplomatura la labor que han llevado a cabo, aun teniendo que trabajar y soportarnos durante estos fines de semana.

Al esfuerzo de nuestras familias, al tener que prescindir de nosotros cuando tendríamos que estar disfrutando de ellos.

A la labor que han llevado a cabo mis compañeros para que esta tesina fuera posible.

## Bibliografía

1. Müller HJ. The remaking of chromosomes. *Collecting Net* 1938; 13: 181-198.
2. McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics* 1941; 26: 234-282.
3. Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972; 239: 197-201.
4. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 621.
5. Olovnikov AM. Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1971; 201: 1496-1499.
6. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 1973; 41: 181-190.
7. Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 98-103.
8. Yao MC, Blackburn E, Gall J. Tandemly repeated C-C-C-A-A hexanucleotide of *Tetrahymena* rDNA is present elsewhere in the genome and may be related to the alteration of the somatic genome. *J Cell Biol* 1981; 90: 515-520.
9. Szostak JW, Blackburn EH. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell* 1982; 29: 245-255.
10. Birmingham K, Elizabeth Blackburn. *Nature Med* 2001; 7: 520.
11. Shampay J, Szostak JW, Blackburn EH. DNA sequences of telomeres maintained in yeast. *Nature* 1984; 310: 154-157.
12. Brown WRA. Molecular cloning of human telomeres in yeast. *Nature* 1989; 338: 774-776.
13. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291: 1304-1351.
14. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409: 860-921.
15. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 1985; 43: 405-413.
16. Wai LK. Telomeres, telomerase and tumorigenesis. A review. *MedGenMed* 2004; 6: 19.
17. Polychronopoulou S, Koutroumba P. Telomere length and telomerase activity: variations with advancing age and potential role in childhood malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 342-350.
18. Bischoff C, Petersen HC, Graakjaer J, Andersen-Ranberg K, Vaupel JW, Bohr VA, Kølvrå S, et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. *Epidemiology* 2006; 17: 190-194.
19. Jenkins EC, Velinov MT, Ye L, Gu H, Li S, Jenkins Jr. EC, et al. Telomere shortening in T lymphocytes of older individuals with Down syndrome and dementia. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 941-945.
20. Tristano A, Chollet ME, Willson ML, Adjounian H, Correa MF, Borges A. Actividad de la telomerasa en leucocitos de sangre periférica de pacientes con hipertensión arterial esencial. *Med Clin (Barc)* 2003; 120: 365-369.
21. Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 842-846.
22. Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao W, Grossman BH, Shay JW, et al. Telomere dysfunction: A potential cancer predisposition factor. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1211-1218.
23. Mu J, Wei LX. Telomere and telomerase in oncology. *Cell Res* 2002; 12: 1-7.
24. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9363-9367.
25. Campisi J. Aging, tumor suppression and cancer: High-wire act! *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 51-58.
26. Wright WE, Shay JW. Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 98-103.
27. Blasco MA. Mammalian telomeres and telomerase: why they matter for cancer and aging. *Eur J Cell Biol* 2003; 82: 441-446.
28. Krstolica A, Campisi J. Cancer and aging: a model for the cancer promoting effects of the aging stroma. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 1401-1414.
29. Campisi J. Cancer and ageing: rival demons? *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 339-349.

30. Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence ageing phenotypes. *Exp Gerontol* 2003; 38: 5-11.
31. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al (1988) A highly conserved repetitive sequence (TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 85:6622-6626.
32. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005;19:2100-2110
33. Griffith JP, Conneau L, de Lange T. 1999, mammalian telomeres end in a large double loop. *Cell* 97 ( 503-514 )
34. Blackburn EH (1991) Structure and function of telomeres. *Nature* (350) 569-577-1991.
35. Counter CM, Avilion AA, LeFevre et al. Telomere shortening associated with Chromosomal instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J*. 1992; 11 1921-9
36. Slijepcevic P, Bryant PE. Chromosome healing, telomere capture and mechanisms of radiation induces chromosome breakage. *Int J Radiol Biol* 1998, 738:
37. William H. Elliot –Daphne C. Elliot. *Bioquímica y biología molecular* ( primera edición .Editorial Ariel Ciencia , S.A. 2002.
38. Yamaguchi H, Calado RT, Ly H et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase , in aplasia anemia. *N Engl J med* 2005; 352 1413-1424.
39. Chan Simon R.W.L, Blackburn EH, Published online. December 2003. Telomeres and telomerase. The Royal Society. University of California , San Francisco, Biochemistry and Biophysics.
40. Blasco MA, Telomere length, stem cells, and aging. *Nat Chem Biol* 2007;3:3:640
41. Blasco, MA, Lee, H-W, Han P, Samper E Greider . Telomere shortening and Tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell* 91,25-34, 2005.
42. Blasco MA. Mice with bad ends: mouse models for study of telomerase in cancer and aging. *EMBO J* 2005;24: 1095-103.
43. Kauko RY, Blum JL , Hearn B Lebow et al,. Human is a unique species among primates in terms of telomere length. *Biochem. Biophys. res Commun*. 1999;263:308-14
44. Shay J. Wright W. Hallmarks of telomeres in ageing research. *J. Pathol*. 2007;211:114-23
45. Hornsby P.J .Telomerase and the aging process. *Exp Gerontol*, 2007 July;42 (7):575-581.
46. Campisi J Cancer and ageing: Rival demons ? *Nature Rev. Cancer* 2003;3:339-33
47. Toussaint O , Medrano E.E. von Zglinick (2000) *Exp. Gerontol*. 35:927-945
48. Saretzky G, Feng J von Zglinicki Et al . *J. Gerontol. A Biol, Sci Med* 53: B438- B-442
49. Morales C.P. Holt J. Oulllete M. Shay. *Nat , Genet* 21 115-118.
50. Lin A. W. Barradas et al. 1998 *Genes Dev* 12:3008-3019
51. Shay J. W, and Bacehti S ( 1997) A survey of telomerase activity in human Cancer. *Euro J. Cancer* 33, 787-791.
52. Bodnar A.G. et al (1988) Extension of life span by introduction of telomerase Activity into normal human cells . *Science* 279, 349-352
53. Hahn W.C et al. ( 1999) Creation of human tumour cells with defined genetic Elements. *Nature* 400, 464-468
54. Weitzman J.B and Yaniv m. Rebuilding the road to cancer (1999) *Nature* 400, 401-402
55. Artandi SE, Chang S , Lee et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000: 406: 641-645.
56. Hastie ND, Dempster et al Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 1990: 346.866
57. Calado T. R Neal S. Young. Telomere Disease. *New Engl J Med* Vol 361:2352-2365. 2009.
58. *Efectos del estrés crónico y de la actividad glucocorticoide sobre el crecimiento: modificaciones en el esqueleto craneal de la rata.* Maria José González Abad
59. *La respuesta de estrés y el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal: de una molécula a la melancolía* (TM O'CONNOR , DJ O'Halloran y F. Shanahan)
60. *La psiconeuroinmunología en el proceso salud enfermedad* (Julio C. Klinger, M.D., M.Sc., Julián A. Herrera, M.D., María L. Díaz, M.D., Andrés A. Jhann, M.D., Gloria I. Ávila, Bact., Clara I. Tobar, Biol.)
61. *HPA and Immune Axes in Stress: Involvement of the Serotonergic System* (Leonard B)
62. *Concentraciones circulantes de cortisol en plasma no se asocian con enfermedad arterial coronaria o enfermedad vascular periférica* RM Reynolds 1, B. Ilyas 1, 2 Precio JF, Fowkes FGR 2, DE 1 Newby, DJ Webb 1 y 1 BR Walker



63. *Stress responses and innate immunity: aging as a contributory factor.* Butcher SK, Lord JM.
64. *Stress, glucocorticoids and ageing of the immune system.* Bauer ME
65. *Neuroendocrine-immune interactions in healthy aging.* Mazzocchi G, Inglese M, De Cata A, Carughi S, Dagostino MP, Marzulli N, Damato M, Grilli M, Giuliani F, Greco A.
66. *The role of stress factors during aging of the immune system.* Bauer ME, Jeckel CM, Luz C.
67. *Chronic stress and immunosenescence: a review.* Bauer ME.
68. *Psychoneuroendocrine correlates of lymphocyte subsets during healthy ageing.* Collaziol D, Luz C, Dornelles F, da Cruz IM, Bauer ME.
69. McEwen, B. (1998) *N. Engl. j. med* 338 , 171 –179. pmid: 9428819
70. Segerstrom, S. & Miller, g. (2004) *Psychol. Bull.* 130.
71. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, Cawthon RM. Accelerated telomere shortening in response to life stress, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101(49):17312-5. Epub 2004 Dec 1.
72. Cawthon, R., Smith, K., O'Brien, E., Sivatchenko, A. & Kerber, R. (2003) *Lancet* 361 , 393–395, pmid:12573379
73. Blasco MA, Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol.* 2007 Oct;3(10):640-9
74. Graham M. Strub, Amy Depczynski, Lynne W. Elmore, and Shawn E. Holt, *Cell Stress Chaperones.* 2008 December; 13(4): 475–482.
75. Jenny Choi, Steven R. Fauce, and Rita B. Effros, Reduced telomerase activity in human T lymphocytes exposed to cortisol *Brain Behav Immun.* 2008 May; 22(4): 600–605.
76. Amanda K. Damjanovic, Yinhua Yang, Ronald Glaser, Janice K. Kiecolt-Glaser, Huy Nguyen, Bryon Laskowski, Yixiao Zou, David Q. Beversdorf, and Nan-ping Weng, Accelerated Telomere Erosion Is Associated with a Declining Immune Function of Caregivers of Alzheimer's Disease Patients. *J Immunol.* 2007 Sep 15;179(6):4249-54.
77. Simon NM, Smoller JW, McNamara KL, Maser RS, Zalta AK, Pollack MH, Nierenberg AA, Fava M, Wong KK., Telomere shortening and mood disorders: preliminary support for a chronic stress model of accelerated aging. *Biol Psychiatry.* 2006 Sep 1;60(5):432-5. Epub 2006 Apr 11.
78. Kao HT, Cawthon RM, Delisi LE, Bertisch HC, Ji F, Gordon D, Li P, Benedict MM, Greenberg WM, Porton B., Rapid telomere erosion in schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2008 Feb;13(2):118-9.
79. Yu WY, Chang HW, Lin CH, Cho CL. Short telomeres in patients with chronic schizophrenia who show a poor response to treatment. *J Psychiatry Neurosci.* 2008 May;33(3):244-7.
80. Fernandez-Egea E, Bernardo M, Heaphy CM, Griffith JK, Parellada E, Esmatjes E, Conget I, Nguyen L, George V, Stöppler H, Kirkpatrick B., Telomere length and pulse pressure in newly diagnosed, antipsychotic-naïve patients with nonaffective psychosis. *Schizophr Bull.* 2009 Mar;35(2):437-42. Epub 2009 Mar 11.

•